Zent.


UNIVERSITY OF IOWA
3 1858 045 671 249


Digitized by Google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Referate. Bd. XLVII. Beiheft.

Bericht über die 4. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie

vom 19.—21. Mai 1910.

Zusammengestellt vom ständigen Schriftführer **Lentz** (Berlin).

1. Tag. 19. Mai 1910.

Sitzung im Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.

Der Vorsitzende Kirchner eröffnet um 10 1/2 Uhr die Sitzung und teilt mit, daß satzungsgemäß 2 Ausschußmitglieder ausgeschieden sind, nämlich Ehrlich und Kraus. Für sie schlägt der Ausschuß vor Pfeiffer (Breslau) und Nocht (Hamburg) zu wählen (allgemeine Zustimmung). Zum ständigen Sekretär wird Lentz (Berlin) gewählt. Der Ausschuß besteht demnach für das nächste Jahr aus: Gärtner, v. Gruber, Kirchner, Nocht, Pfeiffer, Uhlenhuth und Lentz.

Als Ort der Tagung für das nächste Jahr wird Dresden gewählt, zum Vorsitzenden der Vereinigung für 1910/1911 Pfeiffer (Breslau).

Es wird ferner beschlossen, den letzten Satz des § 9 der Satzungen zu streichen.

Zu Vorsitzenden für den 1. Tag werden gewählt Flügge und Löffler. Ersterer übernimmt sodann den Vorsitz und erteilt zum Referat das Wort:

U. Friedemann (Berlin):

Ueber Anaphylaxie.

Seit den Erörterungen, die bei der vorjährigen Tagung dieser Vereinigung der Anaphylaxiefrage gewidmet waren, hat das Gebiet einen so umfangreichen Ausbau erfahren, daß es kaum möglich ist, einen auch nur einigermaßen erschöpfenden Ueberblick über die gewaltig angewachsene Literatur zu geben. Ich kann davon auch um so mehr absehen, als die Anaphylaxieforschung bereits das Stadium der reinen Tatsachenanhäufung überwunden hat, und wir in der Lage sind, wenigstens in einigen Fragen eine Erklärung für die beobachteten Erscheinungen zu geben. Ich muß mich in diesem Referat daher auch auf diejenigen Arbeiten beschränken, die dazu beigetragen haben, den Mechanismus der anaphylaktischen Erscheinungen aufzuklären.

Fassen wir den Begriff der Immunität in seinem ursprünglichen, wörtlichen Sinn und verstehen darunter die angeborene oder erworbene Widerstandsfähigkeit gegen ein belebtes oder lebloses Virus, so bildet die Anaphylaxie dazu den direkten Gegensatz. Die Anaphylaxie beschäftigt sich mit jenen Erscheinungen, bei denen der Organismus nach Vorbehandlung mit einer körperfremden Substanz gegen diese überempfindlich



wird, ohne daß bei der Größe des Intervalles zwischen 1. u. 2. Injektion an eine Summation der Wirkung gedacht werden kann. In ihrer reinsten Form stellt sich die Anaphylaxie dar, wenn ein primär ganz ungiftiger Stoff nach der Vorbehandlung hochtoxisch wird. Derartige Ueberempfindlichkeitserscheinungen sind schon längere Zeit bekannt. (R. Koch, Behring u. Kitashima, Brieger, Knorr, Richet u. a.). Ursprünglich beschrieb man diese Vorkommnisse jedoch als seltene Ausnahmen, ja direkt als paradoxe Phänomene, und erst in den letzten Jahren hat man erkannt, daß die Anaphylaxie ein ungeheuer verbreiteter Vorgang ist, der gelegentlich bei jedem Antigen beobachtet werden kann. Die Immunität stellt sich jetzt als ein Spezialfall dar, der sich fast ausschließlich auf Krankheitserreger und Toxine bezieht.

Alle Stoffe, mit denen wir Anaphylaxie erzeugen können, gehören den Eiweißkörpern an, mögen diese nun in gelöster Form oder als Zellen in den Organismus eingeführt werden, mögen sie dem Tier-, Pflanzen- oder Bakterienreich entstammen. Auch der Mechanismus der Erscheinungen scheint in allen diesen Fällen im wesentlichen der gleiche zu sein. Hingegen existieren bei den einzelnen Tierarten nicht unerhebliche Differenzen. Wird sich auch herausstellen, daß diese nicht prinzipieller Natur sein mögen, so sind sie doch augenblicklich so tiefgreifend, daß aus praktischen Gründen eine Trennung bei der Darstellung geboten erscheint. Ein außerordentlich einfaches Bild bietet eine Gruppe von Tieren, zu denen ich Mensch, Kaninchen und die größeren Pflanzenfresser rechnen möchte. Hingegen zeigt das Meerschwein in verschiedener Hinsicht recht komplizierte Verhältnisse, und ich glaube, daß es für den Fortschritt der Anaphylaxieforschung nicht förderlich gewesen ist, daß man gerade das Meerschwein zur Grundlage der meisten Anaphylaxietheorien gewählt hat.

Praktisches Interesse gewann das Anaphylaxieproblem zuerst durch die Beobachtung der Serumkrankheit beim Menschen. v. Pirquet und Schick, die sich um die Erforschung dieses Krankheitsbildes große Verdienste erworben haben, stellten fest, daß die Krankheit — bestehend in Fieber, Exanthemen, Drüsenschwellungen, bisweilen Gelenkerkrankungen, — nach einem Inkubationsstadium von 8—10 Tagen einsetzt, daß sie jedoch in ihrer Intensität wie in ihrem zeitlichen Ablauf durchaus geänderte Verhältnisse bei der Reinjektion darbietet. Alle Symptome sind viel bedrohlicher, schwere Kollapse mit komatösen Zuständen und Oedemen können sich einstellen. Der Eintritt der Symptome richtet sich nach dem Termin der Reinjektion. Findet diese schon wenige Wochen nach der 1. Injektion statt, so treten die Symptome fast momentan ein — Typus der sofortigen Reaktion. Nach Ablauf einiger Monate fehlt die sofortige Reaktion, aber der Organismus zeigt doch ein abweichendes Verhalten, indem das Inkubationsstadium auf 5—7 Tage verkürzt ist. Ganz ähnliche Gesetze beherrschen nun die im Tierexperiment studierte Eiweißantikörperbildung, und v. Pirquet und Schick betrachten daher die Serumkrankheit als eine vitale Antikörperreaktion, bedingt durch das Zusammentreffen des Antikörpers mit seinem Antigen. Aus diesem Grunde treten bei der 1. Injektion die Symptome erst auf, wenn nach 8—10 Tagen der Antikörper gebildet ist. Findet hingegen die 2. Injektion nach nicht zu langer Zeit statt, so trifft das Antigen auf den bereits fertigen Antikörper und es kommt zum Typus der so-

fortigen Reaktion. Die beschleunigte Reaktion steht in gutem Einklang mit den Versuchen v. Dungerns über die Präzipitinbildung beim Kaninchen. Dieser Autor hat gezeigt, daß bei Tieren, die schon einmal mit dem homologen Eiweiß vorbehandelt waren, die Antikörper rascher erfolgt, auch wenn die Präzipitine der 1. Injektion bereits aus dem Blut verschwunden sind. Ein weiterer experimenteller Ausbau dieser Antikörperhypothese der Anaphylaxie war aber natürlich durch die Beobachtung am Menschen nicht möglich und konnte nur durch die im Tierexperiment durchgeführte genaue experimentelle Analyse erbracht werden.

Versuche über Eiweißanaphylaxie beim Kaninchen gehen nach Morgenroth schon auf Magendie zurück. Aber erst Arthus hat diese Frage systematisch in Angriff genommen. Werden Kaninchen zum ersten Male mit Pferdeserum behandelt, so vertragen sie die Injektion anstandslos. Bei Wiederholung des Eingriffes stellen sich jedoch bei subkutaner Injektion Nekrosen, bei intravenöser schwere Allgemeinerscheinungen ein. Es ist bemerkenswert, daß diese Erscheinungen bei jeder neuen Injektion an Intensität zunehmen, wie wir das ja auch von der Antikörperbildung her kennen. Es fragte sich nun zunächst, ob es sich hier um eine Umstimmung der Zellen des Organismus, also um eine histogene Ueberempfindlichkeit oder um eine durch einen Antikörper vermittelte Erscheinung handelt. Der Beweis für die letztere Annahme läßt sich nun auf dem Wege erbringen, daß die Anaphylaxie durch das Serum anaphylaktischer Tiere auf normale Tiere übertragen werden kann. Der passiven Immunität steht also eine passive Anaphylaxie gegenüber, nur daß es sich hier eben nicht um Schutzstoffe handelt, sondern im Gegenteil um solche Substanzen, die bei ihrem Zusammentreffen mit dem Antigen dieses erst zu einem Gift stempeln und als „anaphylaktische Reaktionskörper“ bezeichnet werden. Ich möchte bemerken, daß, nach eigenen Erfahrungen, die passive Anaphylaxie beim Kaninchen am besten gelingt, wenn Antikörper und Antigen gemischt injiziert werden, vorausgesetzt, daß man einen Ueberschuß an Antigen vermeidet. Es entspricht dies durchaus der Vorstellung eines rein humoralen Vorganges, der beim Zusammentreffen beider Komponenten in der Blutbahn stattfindet; ich muß dies besonders hervorheben, da nur aus den Versuchen am Meerschwein sich die Ansicht entwickelt hatte, daß der Antikörper gar nicht direkt mit dem Antigen reagiere, sondern erst die Zellen des Organismus sensibilisieren müsse.

Ist nun der anaphylaktische Reaktionskörper mit den bekannten Eiweißantikörpern identisch? Diese Frage ist besonders eingehend von Dörr und Ruß studiert worden, welche quantitative Methoden zur Bestimmung des anaphylaktischen Reaktionskörpers ausarbeiteten und damit erst eine Grundlage für exakte Untersuchungen geschaffen haben. Der einfachste Weg ergibt sich natürlich aus einer vergleichenden quantitativen Bestimmung der anaphylaktischen Reaktionskörper und Eiweißantikörper in verschiedenen Seris, und es fragt sich nur, welche der bekannten Reagenzglasmethoden zum Nachweis von Eiweißantikörpern wir in Anwendung zu bringen haben. Wie ich später zeigen werde, wäre die Methode der Komplementbindung die rationellere. Die Untersuchungen von Doerr und Ruß haben jedoch einen so weitgehenden Parallelismus zwischen dem Präzipitingehalt und der Menge anaphylaktischer Reaktionskörper in verschiedenen Seris erwiesen, daß —

wenigstens für das Kaninchen — eine Identität beider Antikörper im höchsten Grade wahrscheinlich wird.

Wir müssen also annehmen, daß bei der Vereinigung der Eiweißantikörper mit seinem Antigen ein Gift entsteht. Der Mechanismus dieser Giftbildung konnte aber erst durch die Heranziehung der zellulären Anaphylaxie aufgeklärt werden. Schon Weichard hatte beobachtet, daß nach wiederholten Einspritzungen von Syncitialzellen und Polleneiweiß Ueberempfindlichkeitserscheinungen auftreten, und Wolff-Eisner hatte das gleiche für Blutkörperchen, Spermatozoen und alle möglichen Organzellen bewiesen. Die Autoren nehmen bereits an, daß die Ueberempfindlichkeitserscheinungen durch die bei der 1. Injektion entstehenden cytolytischen Antikörper bedingt würden, welche in den Zellen präformierte „Endotoxine“ in Freiheit setzten. Die an sich sehr plausible Annahme einer Beteiligung cytolytischer Antikörper bei der zellulären Anaphylaxie war jedoch durch die neueren Erfahrungen am Meerschwein, die auf eine ganz andere Erklärung hindeuteten, ernstlich in Frage gestellt und wurde daher von mir einer genauen experimentellen Prüfung unterzogen. Diese Versuche wurden mit den roten Blutkörperchen des Rindes angestellt und haben in der Tat meiner Ansicht nach den Beweis erbracht, daß bei der Blutkörperchenanaphylaxie der anaphylaktische Reaktionskörper mit dem spezifischen Hämolysin identisch ist. Es ließ sich zeigen, daß:

1. der anaphylaktische Reaktionskörper thermostabil ist,
2. daß er an die roten Blutkörperchen gebunden werden kann,
3. daß sich aus derartig sensibilisierten Erythrocyten durch Komplement (frisches Kaninchenserum) noch vor Eintritt der Haemolyse das Gift im Reagenzglas gewinnen läßt. Damit ist zugleich der Nachweis erbracht, daß unter den Bedingungen, denen die Blutkörperchen bei der 2. Injektion in der Blutbahn begegnen, das Gift entstehen kann, die Giftbildung also ein rein humoraler Vorgang ist.

Schon Weichard und Wolff-Eisner hatten diese Anschauung auf die Eiweißanaphylaxie übertragen und zur Annahme lytischer Eiweißantikörper gegriffen. Ist es vielleicht nicht sehr glücklich, bei schon gelösten Körpern von einer Lyse zu sprechen, so entbehrte diese Hypothese damals jedenfalls der experimentellen Begründung. Inzwischen sind nun aber durch das Komplementbindungsphänomen von Gengou, Bordet, Gay und Moreschi die Eiweißantikörper den cytolytischen Antikörpern sehr nahe gerückt, und es war daher sehr verlockend anzunehmen, daß es sich hier nicht um ein reines Reagenzglasphänomen, sondern um einen mit der Giftbildung im Zusammenhang stehenden äußerst wichtigen biologischen Vorgang handele. Diese Frage konnte in der Weise entschieden werden, daß die Antikörper-Antigenverbindung in Gestalt der spezifischen Präzipitate gesammelt und mit frischem Kaninchenserum extrahiert wurde. Ich habe derartige Versuche angestellt, bin dabei jedoch zu negativen Resultaten gelangt. Glücklicher war Friedberger, der die Präzipitate mit dem Serum von Meerschweinchen extrahierte und die Extrakte auch diesen für das anaphylaktische Gift viel empfindlicheren Tieren injizierte.

Demnach stellt sich also beim Kaninchen die Anaphylaxie — die zelluläre wie die Serumanaphylaxie — als ein rein humoraler Vorgang dar, der durch das Auftreten ambozeptorartiger Antikörper bedingt ist.



Beim Zusammentreffen dieser mit dem Antigen entsteht unter Mitwirkung des Komplementes das anaphylaktische Gift, welches den anaphylaktischen Shock bedingt.

Auf welche Weise diese Giftbildung zustande kommt, ist experimentell noch nicht sichergestellt. Ich muß aber jedenfalls der Ansicht entgegentreten, daß es sich um eine einfache Lyse präformierter Gifte handelt. Ist diese Anschauung für die gelösten Eiweißkörper schon an sich kaum durchführbar, so ließ sie sich für die ersten Blutkörperchen direkt wiederlegen. Auf unspezifische Weise mit Aqua destill. hergestellter Erythrocytenextrakt erwiesen sich nämlich in den angewandten Mengen als völlig ungiftig, und andrerseits war eine sichtbare Cytolyse für die Giftgewinnung überhaupt nicht notwendig. Vor allem aber zeigte es sich, daß für die Giftdarstellung ganz bestimmte quantitative Beziehungen zwischen Ambozeptor, Komplement und Blutkörperchen innegehalten werden müssen, wie es bei einfachen Lösungsvorgängen kaum zu erwarten wäre. Welche der 3 an der Reaktion beteiligten Komponenten, Antikörper, Antigen und Komplement die Muttersubstanz für das Gift abgibt, ist noch nicht entschieden. Auf alle Fälle folgt aus den quantitativen Verhältnissen bei der passiven Anaphylaxie des Kaninchens, daß das Gift nicht lediglich dem Antigen entstammen kann. Offenbar haben wir die Giftbildung als einen Teilvorgang des unter Mitwirkung des Komplementes stattfindenden parenteralen Eiweißabbaues aufzufassen. Daß Eiweiß auch bei Umgehung des Darmkanals in den Geweben beim Fleischfresser wie beim Pflanzenfresser abgebaut werden kann, ist ja nach den Untersuchungen von Friedemann und Isaac, Lommel, Heilner, L. Michaelis und Rona erwiesen. Aus früheren gemeinschaftlich mit Isaac ausgeführten Versuchen hatte sich aber auch ergeben, daß anaphylaktische Tiere auf Eiweißinjektionen mit einem weit energischeren Eiweißzerfall reagieren. Es wurde damals von uns die Annahme gemacht, daß bei diesem Abbau giftige Zwischenprodukte entstehen.

In diesem Sinne sprechen auch die Versuche von Vaughan und Wheeler, die bei der Hydrolyse von Eiweiß in heißem alkalischen Alkohol giftige Stoffe erhielten sowie die älteren Versuche von Weichard. Auch Biedl und Kraus nehmen neuerdings auf Grund toxikologischer Studien an, daß das anaphylaktische Gift mit dem toxischen Prinzip des Wittepeptons identisch ist. Auf die genaue Analyse der Giftwirkung möchte ich jedoch erst nach Besprechung der Meerschweinchenanaphylaxie eingehen und hier nur bemerken, daß das anaphylaktische Gift offenbar kein Toxin ist, da weder mir noch Friedberger eine Immunisierung dagegen gelang.

Wahrscheinlich wären Zweifel an dieser durchaus klaren und einheitlichen Auffassung von den anaphylaktischen Erscheinungen nicht aufgetaucht, wenn nicht inzwischen die scheinbar ganz abweichenden Verhältnisse beim Meerschwein bekannt geworden wären. Die Meerschweinchenanaphylaxie geht auf eine zufällige Beobachtung von Theobald Smith zurück und ist besonders von Otto und Rosenau und Andersen eingehend studiert worden. Das Eigentümliche dieses Phänomens ist die Möglichkeit einer Sensibilisierung mit sehr geringen Mengen und die lange Dauer des so erreichten anaphylaktischen Zustandes. Nach Rosenau und Andersen genügen bereits $^1/_{10000}$ ccm Pferdeserum, um eine 2 fache anhaltende Anaphylaxie zu erzeugen. Eine derartige lang-



dauernde Umstimmung des Organismus durch so geringe Mengen eines nicht vermehrungsfähigen Agens dürfte bisher ohne Analogie in der Biologie sein, und es ist daher verständlich, daß man ursprünglich nicht auf den Gedanken kam, daß es sich um eine Antikörperreaktion handeln könne. Gay und Southard nahmen vielmehr an, daß gewisse Reste des injizierten Pferdeserums einen dauernden Reiz auf die Zellen des Organismus ausüben und diese so für die 2. Injektion sensibilisieren. Um diese Hypothese zu beweisen, übertrugen sie das Serum überempfindlicher Meerschweine auf normale Tiere, warteten das Inkubationsstudium von 10—14 Tagen ab, und riefen nun bei diesen Tieren durch Injektion von Pferdeserum anaphylaktische Symptome hervor.

Die Versuche der amerikanischen Autoren wurden allseitig bestätigt, die Deutung erwies sich jedoch als irrig. Wie nämlich Otto und Friedemann zeigen konnten, ist es nicht nötig, die Inkubationszeit abzuwarten, vielmehr gelingt das Experiment auch, wenn das Pferdeserum 24 Stunden nach dem anaphylaktischen Serum injiziert wird. Da eine so schnelle Erzeugung von Antikörpern unmöglich ist, so handelt es sich also in diesen Versuchen um die Uebertragung des bereits fertigen Reaktionskörpers, und wir haben darin den Beweis für die Existenz einer echten passiven Anaphylaxie zu erblicken.

Trotz dieser Feststellung schienen aber nun die eigentümlichen zeitlichen Verhältnisse bei diesen Versuchen darauf hinzuweisen, daß der Antikörper nicht direkt mit dem Antigen reagiere, sondern zunächst die Zellen des Organismus sensibilisiere (Otto, Friedemann, Besredka, Friedberger, Dörr). Diese mit unseren sonstigen Vorstellungen über die Antikörperwirkung wenig harmonierende Vorstellung gründet sich auf die merkwürdige Tatsache, daß die passive Anaphylaxie nicht gelingt, wenn Antiserum und Antigen gemischt intraperitoneal injiziert werden. Da jedoch bei diesem Vorgehen Komplikationen durch die ungleich geschwinde Resorption nicht ausgeschlossen werden konnten, so hat Doerr beide Sera intravenös injiziert. Auch bei diesem Verfahren war jedoch ein sicherer Erfolg nur zu erzielen, wenn zwischen beiden Injektionen mindestens 4 Stunden gewartet wurde.

Neuere Versuche von Biedl und Kraus, die ich auf Grund unabhängiger nicht publizierter Versuche durchaus bestätigen kann, haben jedoch gezeigt, daß die gegebene Deutung offenbar nicht richtig sein kann. Diese Autoren zeigten nämlich, daß die passive Anaphylaxie stets gelingt, wenn Antikörper und Antigen direkt gemischt werden, daß aber das Ergebnis ein völlig negatives ist, wenn nach der Antikörperinjektion nur wenige Minuten verstrichen sind. Schon vorher hatten Dörr und Ruß gezeigt, daß gelöste Präpizitate giftig sind. Eine experimentelle Erklärung dieser Beobachtungen liegt nicht vor. Ich glaube jedoch, daß die folgende hypothetische Annahme mit den Tatsachen nicht in Widerspruch gerät. Es scheint mir das einfachste, anzunehmen, daß nach der Antiseruminjektion eine Hemmung auftritt, welche in irgendeiner Weise den anaphylaktischen Shock verhindert und nach 4 Stunden wieder abklingt. Um diese Annahme zu stützen, möchte ich darauf hinweisen, daß ein derartiger Vorgang nicht ad hoc konstruiert ist, sondern daß ähnliche Regulationsvorgänge ja auch nach Peptoninjektionen, nach der Injektion gerinnungserzeugender Agentien, nach der Applikation von Weichardts Kenotoxin auftreten. Ich glaube daher, daß auch bei der



passiven Anaphylaxie des Meerschweins eine Mitwirkung der Zellen des Organismus nicht erforderlich ist, sondern daß es sich hier — wie dies beim Kaninchen ja bereits erwiesen war, — um einen in der Blutbahn sich abspielenden Vorgang handelt. Auf einen Punkt möchte ich noch hinweisen, nämlich die lange Dauer der passiven Anaphylaxie beim Meerschwein. Während beim Kaninchen schon am folgenden Tage der anaphylaktische Shock nur sehr schwer auszulösen ist (Friedemann, Kraus, Braun) hält sich der anaphylaktische Reaktionskörpor beim Meerschwein wochenlang (Otto, Braun). Ich glaube, diese Tatsache genügt, um die lange Dauer der aktiven Anaphylaxie beim Meerschwein zu erklären.

Ich komme nunmehr zu einem dritten für die Meerschweinchenanaphylaxie charakteristischen Punkte, nämlich zur Frage der Antianaphylaxie. Ich glaube, hier ist eine große Verwirrung entstanden dadurch, daß man verschiedene, nicht zusammengehörige Dinge nicht scharf genug getrennt hat. Zunächst versteht man unter dieser Bezeichnung die Tatsache, daß Tiere, welche einen anaphylaktischen Shock überstanden haben, nunmehr refraktär gegen eine neuerliche Injektion des Antigens geworden sind. Zweifellos handelt es sich bei dieser rasch einsetzenden Resistenz im wesentlichen um einen Aufbrauch des anaphylaktischen Reaktionskörpers, ganz ähnlich, wie wir nach Injektion von Bakterien in die Blutbahn die entsprechenden Agglutinine schwinden sehen. Dieser Vorgang stellt sich sicherlich ebenso beim Kaninchen ein, wenn es auch vielleicht weniger ausgesprochen in die Erscheinung tritt. Es ist meiner Ansicht nach durchaus irreführend, hierfür eine besondere und das Wesen der Sache verschleiernde Bezeichnung einzuführen, und Friedberger hat durchaus recht, wenn er diese rasch einsetzende Antianaphylaxie einfach als eine Vergiftung refracta dosi auffaßt.[1])

Ganz zu trennen von dieser vorübergehenden Erscheinung ist nun aber die für das Meerschwein charakteristische Erscheinung, daß nach Einspritzung einer größeren Pferdeserumdosis im anaphylaktischen oder präanaphylaktischen Stadium die Tiere in einen Zustand geraten, in dem sie nun auf Wochen hinaus auch aktiv nicht mehr sensibilisiert werden können. Diese Tatsache wird in so übereinstimmender Weise von Otto, Besredka, Rosenau und Anderson, Gay und Southard angegeben, daß es mir kaum möglich erscheint, an der Richtigkeit dieser Beobachtungen zu zweifeln. Um so auffallender ist es daher, daß Friedberger neuerdings zu einem ganz entgegengesetzten Resultat gelangt ist. Ob hier die veränderte Versuchstechnik — intravenöse Reinjektion — oder ungleiches Verhalten der Versuchstiere die Schuld trägt, lasse ich dahingestellt, halte aber eine experimentelle Klärung dieser Divergenz für dringend erwünscht.

Im Mittelpunkt der Diskussion steht augenblicklich die Frage nach der Natur der anaphylaktischen Reaktionskörper. Trotz aller entgegenstehenden Schwierigkeiten ist Friedberger neuerdings energisch für

[1]) Ob allerdings mit dieser Annahme allein die Persistenz nach dem anaphylaktischen Shock zu erklären ist, erscheint mir zweifelhaft. Die Beobachtungen von Biedl und Kraus, derzufolge im antianaphylaktischen Zustand auch Antikörperantigenmischungen wirkungslos sind, ferner der von Pfeiffer erhobene Befund, daß sich mit Wittepepton Antianaphylaxie erzeugen läßt, deuten darauf hin, daß daneben vielleicht auch eine Resistenz gegen das anaphylaktishce Gift mitspielt.

die Identität mit den Eiweißantikörpern eingetreten. Den Haupteinwand gegen diese Annahme bildet die Tatsache, daß bei den durch kleinste Dosen Pferdeserum anaphylaktisch gemachten Meerschweinen Präzipitine überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten. Auch komplementbindende Antikörper wurden nur von Nicolle und Abt gefunden. Nun hat Friedberger wohl zweifellos recht, wenn er darauf hinweist, daß dieser Einwand nicht schlagend ist, da ja die vitale Reaktion und die Reagenzglasmethoden eine sehr ungleiche Empfindlichkeit besitzen.

Schwerwiegender ist schon der Vergleich zwischen den anaphylaktischen Erscheinungen beim Kaninchen und beim Meerschweinchen. Das Kaninchen ist ein guter Präzipitinbildner, aber schwer aktiv zu sensibilisieren, während jenes das gerade entgegengesetzte Verhalten aufweist. Diese Schwierigkeit hat nun Friedberger dadurch zu umgehen gesucht, daß er für die Anaphylaxie — ähnlich wie Besredka — nicht die frei in der Blutbahn zirkulierenden, sondern die in den Geweben vorhandenen senilen Rezeptoren verantwortlich macht. Nur diese sollten beim Zusammentreffen mit dem Antigen den anaphylaktischen Shock auslösen, während umgekehrt die freien Präzipitine geradezu einen Schutz ausübten. Diese letztere Annahme kann als widerlegt gelten und wird auch von Friedberger selbst nicht mehr aufrecht erhalten. Aber auch für eine Beteiligung seniler Rezeptoren überhaupt fehlen bisher experimentelle Beweise. Wäre diese Annahme wirklich richtig, so müßte es gelingen, mit den Organen anaphylaktischer Tiere und Antigen zusammen Giftbildung zu erzielen, ein Beweis, der bisher — meines Wissens — trotz mehrfacher Bemühungen nicht geglückt ist. Ich glaube aber auch, daß sich die beobachteten Differenzen viel einfacher durch die ungleiche Resistenz der Tierarten gegen das anaphylaktische Gift erklären lassen.[1]) Auch die lange Dauer der aktiven Anaphylaxie beim Meerschwein macht die Annahme seniler Rezeptoren entbehrlich, da nach Gay und Southard noch nach 1 Jahr der anaphylaktische Reaktionskörper im Blut nachweisbar ist.

Es ergibt sich also, daß die Eiwände gegen die Identität der Eiweißantikörper mit den anaphylaktischen Reaktionskörpern nicht zwingender Natur sind, daß aber andererseits ein positiver Beweis für die Identität — etwa durch quantitative Auswertung verschiedener Meerschweinchensera — bisher ebenfalls nicht erbracht werden konnte.[2])

---

[1]) Wie mir Herr Friedberger persönlich mitteilte, neigt er auf Grund seiner neueren Arbeiten jetzt selbst dieser Ansicht zu.

[2]) Ich möchte hier noch eine Erörterung einflechten, die ich in meinem Vortrag aus Zeitmangel fortlassen mußte. Es scheint mir, daß die ganze hier aufgeworfene Frage nicht eine so einschneidende Bedeutung hat, vor allem schon, weil sie aus prinzipiellen Gründen mit unsern bisherigen Methoden nicht zu lösen ist. Findet sich in einem Falle vollständiger Parallelismus zwischen Präzipitingehalt und Menge der anaphylaktischen Reaktionskörper, wie dies Dörr und Ruß für das Kaninchenserum erwiesen haben, so werden die Gegner dieser Anschauung stets hervorheben, daß in anderen Fällen doch eine Divergenz hervortreten könnte. Andererseits ist es aber meiner Ansicht nach ganz unzulässig, aus einem abweichenden Resultat beider Methoden ohne weiteres auf eine Verschiedenheit der supponierten Substanzen zu schließen. Dieser Schluß wäre nur berechtigt, wenn in der Tat verschiedene Sera nur in ihrem quantitativen Gehalt an Antikörpermolekülen differierten. Tatsächlich wissen wir aber aus den Untersuchungen von Kraus, Landsteiner und Reich, P. Th. Müller u. a., daß sich während der Immunisierung auch qualitative Aenderungen der Sera vollziehen (Aviditätsunterschiede!).

Um so wichtiger ist es natürlich, Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, ob wie beim Kaninchen auch beim Meerschwein der anaphylaktische Reaktionskörper dem Ambozeptorentypus angehört, ob also an der Giftbildung die Komplemente beteiligt sind. Den direkten Beweis für diese Auffassung durch Herstellung des anaphylaktischen Giftes im Reagenzglas zu erbringen, ist infolge des Fehlens deutlicher Präzipitate beim anaphylaktischen Meerschwein unmöglich. Indirekt weist aber doch das eigentümliche Verhalten der Komplemente im anaphylaktischen Shock auf einen derartigen Mechanismus hin. Sleeswyk beobachtete als erster, daß während des anaphylaktischen Shocks eine Abnahme des Komplementgehaltes zu konstatieren ist, brachte jedoch beide Erscheinungen in keinen ursächlichen Zusammenhang. Erst Friedberger und Hartoch und unabhängig davon Scott erwiesen die Konstanz dieses Phänomens und den vollständigen zeitlichen Zusammenhang mit dem anaphylaktischen Shock. Friedberger und Hartoch zeigten ferner, daß durch einen Eingriff, welcher die Komplementbindung in vitro hindert, nämlich durch Erhöhung der Salzkonzentration, auch der anaphylaktische Shock verhindert werden kann. Im Zusammenhang mit den beim Kaninchen festgestellten Tatsachen scheinen mir diese Beobachtungen dafür zu sprechen, daß auch beim Meerschwein Ambozeptoren die Giftbildung herbeiführen, und daß also eine einheitliche Auffassung aller bisher beobachteten anaphylaktischen Prozesse möglich ist.

Ein großes Interesse bietet nun die Frage nach dem Angriffspunkt des anaphylaktischen Giftes. Jedem, der ein Tier im anaphylaktischen Shock zu beobachten Gelegenheit hatte, wird sich wohl der Eindruck aufdrängen, daß es sich hier um einen vom Zentralnervensystem ausgelösten Symptomenkomplex handelt, und in der Tat war das auch die Auffassung, die Besredka auf Grund seiner Versuche zuerst vertreten hat. Er stützte diese Ansicht vor allem auf die Tatsachen, daß bei intracerebraler Injektion der anaphylaktische Shock besonders leicht auszulösen ist, und daß sich die Krankheit durch Narcotica, insbesondere Aether und Chloralhydrat, aufheben läßt. Beide Argumente sind nicht streng beweisend. Durch die neueren Versuche von Dörr und Ruß sowie Friedberger wissen wir, daß bei intravenöser Injektion noch viel geringere Mengen zur Auslösung des anaphylaktischen Shocks erforderlich sind als bei cerebraler und auch die Wirkung der Narcotica

---

Nun beruhen ja die Präzipitation und die anaphylaktische Reaktion auf ganz verschiedenen Eigenschaften der hypothetischen Antikörper. Die spezifische Fällung ist in ihrem quantitativen Verhalten außer durch die Zahl der Antikörpermoleküle sicherlich auch durch die chemisch-physikalischen Eigenschaften, insbesondere die Stabilität der an der Reaktion beteiligten Kolloide bedingt. Die Stärke des anaphylaktischen Shocks wird aber sehr wesentlich abhängen von der Menge der im Eiweißmolekül vorhandenen giftbildenden Atomkomplexe. Es ist nun sehr wohl möglich, daß die Eiweißkörper des Meerschweins und des Kaninchens in dieser Hinsicht gerade entgegengesetzte Eigenschaften aufweisen, ja man muß mit der Annahme rechnen, daß sich auch im Lauf der Immunisierung Antikörper bilden, bei denen beide Eigenschaften in einem sehr ungleichen Verhältnis stehen. Der springende Punkt dieser ganzen Betrachtung ist, daß die Antikörper, von denen wir sprechen, nur die hypothetischen materiellen Substrate der beobachteten Serumeigenschaften sind, und daß es eigentlich gleichgültig ist, ob wir einen Körper mit zwei voneinander unabhängigen Eigenschaften annehmen, oder ob wir diese beiden Eigenschaften zwei differenten Stoffen zuerteilen.

kann erklärt werden, wenn der Angriffspunkt des Giftes peripher gelegen ist.

Aus ihren Versuchen ziehen dann Biedl und Kraus neuerdings auch ganz andere Schlüsse. Nach der Meinung dieser Autoren steht im Mittelpunkt des Vergiftungsbildes eine starke Blutdrucksenkung peripherer Natur (da durch $BaCl_2$, nicht aber durch Adrenalin aufzuheben), die mit Leukopenie und Ungerinnbarkeit des Blutes einhergeht. Da ganz die gleichen Symptome bei der Injektion von Wittepepton auftreten, so halten Biedl und Kraus das anaphylaktische Gift für identisch mit dem giftigen Prinzip des Wittepeptons, dem sog. „Vasodilatin". Es ist doch sehr wahrscheinlich, daß diese am Hunde gewonnenen Ergebnisse — wofern hier überhaupt eine echte Anaphylaxie vorkommt — nicht ohne weiteres auf das Meerschwein übertragen werden können, da dieses Tier gegen das Wittepepton nach Werbitzky sehr unempfindlich ist. In der Tat haben nun neuerdings Auer und Lewis und nach ihnen Biedl und Kraus, gezeigt, daß beim Meerschwein der anaphylaktische Shock in erster Linie durch einen Krampf der Bronchialmuskeln charakterisiert ist, der zu einem vollständigen Verschluß der Atemwege führen kann und sich bei der Sektion als Lungenstarre dokumentiert.

Wie ist nun diese Verschiedenheit im Krankheitsbild bei den einzelnen Tierarten zu erklären? Es wäre ja durchaus möglich, daß ein und dasselbe Gift bei verschiedenen Tierspezies qualitativ ungleiche Wirkungen entfaltet. Wahrscheinlicher ist es mir jedoch, daß bei dem parenteralen Eiweißabbau verschiedene Partialgifte entstehen, gegen die die einzelnen Tierarten eine ungleiche Empfindlichkeit aufweisen. Auch bei hydrolytischer Eiweißspaltung erhielt Weichardt neben seinen Ermüdungsstoffen krampferregende Gifte.

Vor allem ist aber ein Punkt bisher gar nicht berücksichtigt worden, der schon den älteren Physiologen bekannt war. Wie nämlich Contejean, Glay, Delezenne, Spiro und Ellinger u. a. gezeigt haben, sind die Wirkungen des Wittepeptons auf das Blut keine direkten, sondern werden durch einen Stoff hervorgerufen, der erst unter dem Einfluß des Wittepeptons von der Leber sezerniert wird. Ferner haben schon diese älteren Untersuchungen ergeben, daß die Hundeleber im Gegensatz zum Kaninchen und Meerschwein diesen Stoff in reichlicher Menge enthält. Ich halte es daher für sehr wahrscheinlich, daß auch beim Hund das anaphylaktische Gift seine Wirkung nicht direkt auf das Blut und die Gefäße ausübt, sondern primär auf die Leber, welche dann erst dieses sekundäre Gift produziert.

In bezug auf die Ueberempfindlichkeitserscheinungen gegen Gifte will ich mich sehr kurz fassen. Auszuschalten sind hier meiner Ansicht nach von vornherein alle die Fälle, in denen es sich um eine Ueberempfindlichkoit gegen chemisch definierte Substanzen (Apomorphin, Atoxyl, Satinholz usw.) handelt. Geradeso wie wir von einer erworbenen Giftfestigkeit (Morphium, Alkohol, Arsen usw.) im Gegensatz zur Toxinimmunität sprechen, so dürfen wir wohl auch die erwähnten Erscheinungen als eine von der Anaphylaxie zu trennende Giftüberempfindlichkeit auffassen. Auch die Ueberempfindlichkeit gegen echte Toxine dürfte mit der bisher besprochenen Anaphylaxie wenig zu tun haben. Auf diese Frage, sowie auf die giftigen Eiweißkörper möchte ich jedoch



nicht eingehen, da sie wohl durch Herrn Doerr, den Korreferenten, der gerade auf diesem Gebiet grundlegend gearbeitet hat, hierüber noch einiges erfahren werden.

Nur auf einen Punkt möchte ich zum Schluß noch zu sprechen kommen, nämlich auf die Beziehungen der Anaphylaxie zur Pfeifferschen Endotoxinlehre. Bekanntlich hatte Pfeiffer für eine Reihe gerade für die menschliche Pathologie wichtiger Krankheitserreger angenommen, daß sie nicht aktiv Toxine sezernieren, sondern erst bei dem mit ihrem Absterben eintretenden Auflösungsprozeß giftige Stoffe, die sog. Endotoxine, austreten lassen. Die Grenze zwischen den echten Toxinen und den Endotoxinen hat sich nun in letzter Zeit etwas verwischt, seitdem es gelungen ist, auch bei den typischen Endotoxinbildnern lösliche Toxine mit antigenem Charakter nachzuweisen. Immerhin konnten auf dem vorjährigen Mikrobiologenkongreß Pfeiffer und Ungermann sowie Kolle und seine Schüler zeigen, daß neben diesen Toxinen in den Bakterienleibern giftige Stoffe enthalten sind, die durch Antitoxin nicht abgesättigt werden können. Ich glaube nun, daß wir im Lichte der neueren Anaphylaxieforschung die Existenz dieser Giftstoffe in einer anderen Weise erklären können. Die Versuche über die zelluläre Anaphylaxie haben ja ergeben, daß stets beim Zusammentreffen von Antigen, Ambozeptor und Komplement Giftstoffe entstehen, und wir haben allen Grund anzunehmen, daß das, was für die immunisatorisch entstandenen Ambozeptoren experimentell erwiesen ist, auch für die Ambozeptoren des normalen Serums Gültigkeit besitzt. Es ist mir daher das wahrscheinlichste, daß sie sog. Endotoxinwirkung gar nicht auf präformierte Gifte zurückzuführen ist, sondern auf giftige Stoffe, die erst bei der Einwirkung der normalen Bakteriolysine auf den Bakterienleib neu entstehen. Auf diese Weise erklärt sich die Unmöglichkeit, gegen die Endotoxinwirkung zu immunisieren, sowie die Aehnlichkeit des Krankheitsbildes der Endotoxinvergiftung mit der Anaphylaxie in ungezwungener Weise.

Erweist sich diese Auffassung als richtig, so wäre damit die Brücke zwischen der erworbenen Anaphylaxie und der angeborenen Disposition geschlagen, und wir wären berechtigt, wie wir das ja in der Immunitätslehre bisher gewohnt waren, auch die Anaphylaxie nur als den Ausdruck einer Steigerung physiologischer Vorgänge zu betrachten. Die Anaphylaxie wäre damit nur eine Steigerung der natürlichen Disposition. Insbesondere würde es von großem Interesse sein, bei den bekannten Idiosynkrasien gegen Eiereiweiß, Krebse, Gramineenzellen mit den geschilderten Methoden auf das Vorhandensein anaphylaktischer Reaktionskörper zu fahnden.



R. Doerr (Wien).

Ueber Anaphylaxie.

Meine Herren! Mein Korreferent, Herr Friedemann, hat in seinem Vortrage die historische Entwicklung der Anaphylaxiefrage skizziert und mich dadurch der Notwendigkeit überhoben, auf die ohnedies hinreichend bekannten Etappen im Werdegang dieser Lehre genauer einzugehen, wie sie durch die Namen von Richet, v. Behring, Koch, v. Pirquet und Schick, Wolff-Eisner, Arthus, Theobald Smith charakterisiert sind. Es ist mir das um so angenehmer, als ich es nicht mehr für zweckmäßig halte, auf diese älteren Arbeiten heute noch in der Form Rücksicht zu nehmen, daß man, wie es vielfach geschieht, anaphylaktische Erscheinungen beim Kaninchen als Phänomen von Arthus, solche beim Meerschweinchen als Phänomen von Th. Smith bezeichnet. Wir wissen jetzt dank der intensiven experimentellen Bearbeitung dieses Gebietes, daß die beobachteten Differenzen auf die Wahl verschiedener Versuchstiere, und auf willkürliche Varianten äußerer Bedingungen zurückzuführen sind, daß aber im Wesen die spezifische Ueberempfindlichkeit gegen artfremdes Eiweiß einen auf einheitlicher Grundlage beruhenden und identischen Gesetzen gehorchenden Vorgang darstellt. Deshalb ist es auch zweckmäßig, für dieses Phänomen, den sprachlich unrichtigen, aber eingebürgerten Ausdruck „Anaphylaxie“ beizubehalten; damit ist durchaus nicht gesagt, das Richet, der ihn vorschlug, und der übrigens bis in die letzte Zeit an der Ausgestaltung des Problems tätigen Anteil genommen, als der alleinige Entdecker der Tatsache hingestellt wird, wohl aber wird schon durch das fremde Wort die Eiweißüberempfindlichkeit scharf von anderen, äußerlich ähnlichen, aber sonst toto coelo verschiedenen Formen von Hypersensibilität wie gegen chemisch definierte Gifte, Cocain, As, Apomorphin oder gegen Bakterientoxine abgegrenzt.

Diese einheitliche Auffassung der Eiweißanaphylaxie und ihres Mechanismus steht in Gegensatz zu Friedemann, Biedl und Kraus, u. v. a., welche je nach der in Betracht kommenden Tierart verschiedene Formen der Anaphylaxie unterscheiden wollen. Es ist aber viel wahrscheinlicher, daß es sich dabei nur um graduelle Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit differenter Spezies auf einen und denselben Prozeß handelt, einen Prozeß, dessen Angelpunkt in allen Fällen der antigene Charakter körperfremden Eiweißes darstellt. Für den Experimentator ist es allerdings von eminenter Wichtigkeit, die sehr beträchtlichen, nicht immer rein quantitativen Unterschiede im Verhalten verschiedener Tiere zu kennen, und ich selbst habe ja davor gewarnt, aus Kaninchenversuchen gezogene Schlüsse ohne weiteres auf Meerschweinchen und umgekehrt zu übertragen oder gar zur Formulierung allgemein gültiger, den Mechanismus der Anaphylaxie betreffender Hypothesen zu verwerten. Wollte man heute, wo es an zahlenmäßigen, vergleichbaren Angaben noch mangelt, eine



Empfindlichkeitsskala aufstellen, und derselben die Leichtigkeit zugrunde legen, mit der sich bei den einzelnen Tierarten aktive, hochgradige Eiweißanaphylaxie herbeiführen läßt, so wäre in erster Linie das Meerschweinchen zu nennen. Nach Rosenau und Anderson, Wells und meinen Versuchen genügen von gewissen Eiweißarten wie Rinderserum, nach Hopkins und Pinkus krystallisiertem Eieralbumin schon 0,000 000 05 g Trockensubstanz, ein einziges Mal subkutan injiziert, um Meerschweinchen zu sensibilisieren, und 0,0001—0,0005 g intravenös reinjiziert, um den Tod solcher sensibilisierter Tiere blitzartig eintreten zu lassen. An die zweite Stelle würde der Mensch zu setzen sein. Die Erfahrungen von Otto, Flexner und Currie über Reinjektionen von Diphtherie- und Meningokokkenserum, ferner der Fall von Lüdke betreffend eine nach 14tägigem Intervall ausgeführte Reinjektion von Dysenterieserum zeigen, daß der Mensch ähnlich wie das Meerschweinchen durch eine einmalige Injektion von Pferdeeiweiß spezifisch sensibilisiert werden kann, daß dieser Zustand hier wie dort eine außerordentliche Dauer besitzt, und daß die Akuität und Schwere des Shocks eine sehr bedeutende sein kann. Bedenkt man die Differenz des Körpergewichtes, ferner die Tatsache, daß Reinjektionen von Serum meist kurz hintereinander, weniger aber nach entsprechendem, d. h. 2—3 wöchentlichem Intervall und glücklicherweise meist nicht intravenös oder intraspinal, sondern subkutan ausgeführt werden, eine Form der Reinjektion, die auch beim anaphylaktischen Meerschweinchen nach Lewis 1000mal schwächer wirkt, so wird man die Disposition der menschlichen Rasse für Eiweißanaphylaxie nicht allzu gering veranschlagen. In eine dritte Gruppe würde ich alle jene Tiere subsummieren, bei welchen die einmalige Injektion kleiner Eiweißmengen nicht ausreicht, um Ueberempfindlichkeit herbeizuführen, bei welchen aber durch fortgesetzte, methodische Zufuhr höchstgradige Anaphylaxie erzielt werden kann; hierzu gehört das Pferd, die Ziege, der Hammel, das Huhn, die Taube und besonders das Kaninchen. Es liegen in der Literatur allerdings Angaben vor, wie von Pick und Yamanouchi, in welchen von einer sicheren Sensibilisierung besonders kleiner und junger Kaninchen durch einmalige Injektion berichtet wird, die meisten Autoren, wie Braun, Neufeld, Friedemann, Friedberger u. v. a. sahen aber, wie erwähnt, das Gegenteil, wenigstens bei Tieren von 1 kg oder darüber. Im diametralen Kontrast zum Meerschweinchen stehen endlich Hunde und weiße Mäuse; doch ist es nicht richtig, daß sich dieselben überhaupt nicht anaphylaktisch machen lassen, nur sind sehr große oder wiederholte Eiweißinjektionen nötig, und die Reaktion ist wenigstens bei Verwendung von artfremdem Serum relativ schwach, weniger shockartig und endet seltener und erst nach Ablauf mehrerer Stunden mit dem Tode, wie die Experimente von Remlinger, Friedemann, Braun, und meine eigenen in Gemeinschaft mit Ruß und Moldovan lehren. Aus diesem Ueberblick ergibt sich in praktischer Hinsicht zunächst die Konsequenz, daß sich zu allen Experimenten über Anaphylaxie das Meerschweinchen als höchst empfindliches Testtier am besten, wenn nicht ausschließlich eignet. Das gilt besonders für alle jene Fälle, wo es sich darum handelt, festzustellen, ob irgendeinem Substrat anaphylaktisierende Eigenschaften über-



hauptinnewohnen, ferner, und das ist von großer Bedeutung, wo die Ermittlung zahlenmäßiger Verhältnisse gefordert wird; denn das Meerschweinchen ist nicht nur empfindlich, es reagiert auch viel prompter und gleichmäßiger als jeder andere tierische Organismus.

Schreiten wir nun nach Erledigung dieser technischen Details zur Begründung des eingangs aufgestellten Satzes, daß alle Erscheinungsformen der Eiweißanaphylaxie auf demselben Mechanismus basieren, so kann es heute wohl keinem Zweifel mehr unterliegen, daß es sich hier um eine Antigen-Antikörper-Reaktion, also um einen Immunitätsprozeß handelt. Diesen Gedanken haben schon v. Pirquet und Schick, Wolff-Eisner, Weichardt, Nicolle ausgesprochen, eine klare und überzeugende Fassung erhielt er aber erst durch Friedberger in seiner „Kritik der Theorien der Anaphylaxie" und durch die in engem zeitlichen Anschlusse und unabhängig davon entstandenen Arbeiten von Friedemann, Besredka, Richet, mir und meinen Mitarbeitern Raubitschek, Ruß und Moldovan, sowie hauptsächlich durch die wichtigen experimentellen Untersuchungen von Friedberger selbst. Wenn man sich früher dagegen gesträubt hat, oder noch sträubt, die Anaphylaxie geradezu als die Immunität gegen artfremdes Eiweiß zu bezeichnen, so beruht dies wohl darauf, daß man von der Beschäftigung mit den medizinisch so wichtigen Toxinen her gewöhnt war, die Antigene als Substanzen mit primärer Giftwirkung zu betrachten, unter Immunität folgerichtig stets einen Zustand erhöhter Widerstandsfähigkeit und unter Antikörper Stoffe zu verstehen, welche die Giftwirkung der Antigene neutralisieren. Von diesem Standpunkt aus betrachtet wäre die Anaphylaxie natürlich keine Immunität; denn die artfremden Eiweißsorten sind an sich oft, wie z. B. Pferde- oder Kaninchenserum für Meerschweinchen, absolut atoxisch, ihre parenterale Zufuhr ruft hochgradige Ueberempfindlichkeit hervor, und ihre Antikörper liefern mit dem Antigen nicht blande, sondern, wie wir hören werden, giftige Reaktionsprodukte. Allein der Begriff der Immunität hat heute einen wesentlich anderen Inhalt; wir vereinigen darunter alle Vorgänge, die aus der gegenseitigen Wechselwirkung von Antigen und Antikörper entspringen, ohne auf das Vorhandensein erhöhter Resistenz beim immunisierten Tier Rücksicht zu nehmen, wie z. B. die Agglutination, die Zytolyse, die Präzipitation u. a. und in diesem Sinne gilt eben der Satz: die Anaphylaxie ist die Immunität gegen artfremdes Eiweiß. Das läßt sich natürlich ebensogut umkehren, d. h. durch die immunisatorische Verwendung körperfremden Eiweißes erzielt man stets Anaphylaxie, und es erscheint daher heute als ein Nonsens, zu fragen, ob man nicht auch auf diesem Wege zu einer erhöhten Toleranz gegen das anaphylaktische Antigen gelangt. Uebrigens ist diese Frage praktisch längst entschieden, und Sie wissen alle, daß Pferde, Ziegen, Kaninchen, die man mit heterologem Serum, Erythrozyten, Vollbakterien konsequent spritzt, unfehlbar in kürzester Zeit eingehen, während im Gegensatz dazu die Immunisierung mit reinen Toxinen jahrelang, ja vielleicht unbegrenzt ertragen werden kann.

Zur Konfundierung der antitoxischen Immunität mit der Eiweißanaphylaxie trug auch nicht wenig bei, daß man bei der Immunisierung mit echten Toxinen Ueberempfindlichkeitserscheinungen wahrnahm, wie



sie Behring, Knorr, neuerlich Meyer und Löwi beschrieben, die man dann später zur Anaphylaxie zählen wollte, und daß andererseits gewisse Substrate neben artfremdem Eiweiß auch Gifte enthielten, wie das Aalserum, die giftigen Kongestine und Krepitine von Richet, giftige Bakterien u. a. m., die zum Teil sogar Antitoxinbildung hervorriefen. Es muß zugegeben werden, daß diese komplexen Verhältnisse nur schwer einer Klärung zugänglich waren, solange man nur die aktive Anaphylaxie kannte. Erst mit der eminent bedeutungsvollen Entdeckung der passiven Anaphylaxie durch Friedemann und Otto, d. h. der Möglichkeit mit dem Serum von eiweißüberempfindlichen Tieren den Zustand auf gesunde Tiere derselben oder einer anderen Spezies zu übertragen, war ein Fortschritt ermöglicht. Damit war nämlich nachgewiesen, daß im Blute der anaphylaktischen Tiere Immunstoffe kreisen, die durch die Vorbehandlung mit dem heterologen Eiweiß entstehen und deren Vorhandensein im Organismus den einzigen und ausschließlichen Grund des überempfindlichen Zustandes bildet. Nun war man bei der Erkennung anaphylaktischer Antigene oder, wie man sich kurz und zweckmäßig ausdrückt, der Anaphylaktogene nicht mehr auf die nicht ganz eindeutigen Erscheinungen von Ueberempfindlichkeit bei wiederholter Injektion angewiesen, sondern konnte nach dem in der gesamten Immunitätslehre üblichen Schema die Diagnose Anaphylaktogen durch den Nachweis des zugehörigen Antikörpers, das will sagen, durch die passive Uebertragung des überempfindlichen Zustandes stellen. An diesem, wie ich gleich vorweg betonen möchte, dem einzigen verläßlichen Kriterium gemessen, müßten vor allem, wie ich schon lange festgestellt und, wie heute auch Herr Friedemann zugibt, die echten Toxine aus der Reihe der Anaphylaktogene ausgeschieden werden. Wir kennen bei denselben nur die neutralisierenden Antitoxine, nicht aber Serumstoffe, die ein Tier gegen Toxin empfindlicher machen würden als ein normales. Ferner konnte ich mit Raubitschek am Aalserum, ferner Kraus und ich, Kraus und Amiradžibi, Rosenau und Anderson an giftigen Bakterien, in gewissem Sinne auch Richet am Kongestin und Krepitin zeigen, daß in den primärgiftigen anaphylaktisierenden Substraten Toxin und Anaphylaktogen zwei im Sinne der Immunitätslehre, wenn auch nicht im Sinne der Chemie verschiedene Körper darstellen, daß sich die toxischen Eigenschaften bei Konservierung der anaphylaktogenen durch Erwärmen, durch Säuren usw. zerstören lassen, daß endlich die Immunisierung mit solchen komplexen Antigenen zur Bildung von Antitoxinen einerseits, von anaphylaktischen Immunkörpern andererseits führt, die bald koexistieren, bald getrennt vorkommen, jedenfalls aber mit Hilfe einer geeigneten Methodik isoliert nachweisbar sind.

Durch dieses Kriterium der passiven Anaphylaxie oder des Reaktionskörpernachweises sind wir also in die Lage versetzt, das Gebiet der echten Anaphylaktogene scharf zu umgrenzen. Es ist nicht möglich, hier auf alle Einzelheiten einzugehen, welche die Untersuchungen von Uhlenhuth und Haendel, Thomsen, Sleeswijk, Schern, Wells, Richet, Chauffard u. v. a. zutage gefördert; doch lehrt ein summarischer Ueberblick, daß nur **artfremde Eiweißkörper** in Betracht kommen. Ueber die chemische Natur derselben wissen wir so gut wie nichts; nach meinen Versuchen mit Ruß gehören die Anaphylaktogene

des Pferde- und Rinderserums zu den Globulinen, die Albumine sind unwirksam, nach Wells sind die wirksamen Stoffe des Hühnereies im Albumin und im Ovomukoid zu suchen. Verändert man die nativen Eiweißkörper durch Eingriffe irgendwelcher Art, durch Erhitzen, durch Einwirkung von Lauge oder Säure, Jod, Nitrieren, Diazotieren, durch Verdauen oder dgl., so nimmt das Anaphylaktogen mit fortschreitender Zersetzung quantitativ ab; daß es relativ lange nachweisbar bleibt, daß man insbesondere imstande ist, mit solchen Präparaten Meerschweinchen zu sensibilisieren, hängt eben damit zusammen, daß schon infinitesimale Dosen unveränderten, der Zersetzung entgangenen Eiweißes zu diesem Zwecke ausreichen. Stellt man sich reine Abbauprodukte von natürlichem Eiweiß her, so erhält man mit und gegen dieselben keine Anaphylaxie, wie die negativen Experimente von Abderhalden und Weichardt mit absolut reinen Aminosäuren Glykokoll, d- und l-Alanin, dl-Alanin, die Versuche von Wells mit Albumosen und Peptonen, die von mir und Ruß mit Witte- und Seidenpepton beweisen, da sie am hochempfindlichen Meerschweinchen ausgeführt sind. Desgleichen ist mir und anderen, wie Gay und Adler die Anaphylaktisierung von Meerschweinchen mit reinen, eiweißfreien Lipoiden nicht geglückt, wohl aber berichten Pick und Yamanouchi über positive Resultate bei Kaninchen mit Pferde- und Rinderserumlipoïden, lassen indes die Möglichkeit offen, daß es sich hier um Kombinationen von Eiweiß- und Fettverbindungen gehandelt habe.

So wenig wir vom chemischen Aufbau der Anaphylaktogene erschließen konnten, so gut bekannt erwiesen sie sich in serologischer Beziehung. Lange vor aller Anaphylaxie wußten wir vom spezifisch antigenen Charakter artfremden Eiweißes, sei dieses nun gelöst, frei wie das Serumeiweiß, oder ein Bestandteil von Zellen, wie der Erythrocyten, Spermatozoen, Organzellen. Zwei große und gut bearbeitete Immunitätsgebiete, die durch Uhlenhuth bis ins Detail gekannten Präzipitine, und die nicht minder sorgfältig erforschten Hämolysine standen für einen Vergleich zur Disposition.

Nun, meine Herren, dieser Vergleich hat zur Konstatierung einer **absoluten Uebereinstimmung** geführt. Die nunmehr allseits anerkannte Spezifität der anaphylaktischen Reaktion, ihre Einschränkung durch das Uebergreifen auf nahe verwandte Eiweißarten, wie dies ich und Ruß, Uhlenhuth und Haendel festgestellt, die Möglichkeit, mit pflanzlichem Eiweiß spezifische Präzipitine sowohl als Anaphylaxie zu erhalten (Kraus und seine Mitarbeiter, Schern, Uhlenhuth und Haendel), die Tatsache, daß die gewebsspezifischen Anaphylaktogene, wie das Linseneiweiß, das Hämoglobin auch auf anaphylaktischem Boden ihre Eigentümlichkeit dokumentieren (Kraus, ich und Sohma, Uhlenhuth, Haendel und Andrejew, Pfeiffer, Thomsen usw.), die Sonderstellung der Geschlechtszellen als Präzipitinogene, Lysinogene und Anaphylaktogene, wie sie aus den schönen Versuchen von v. Dungern und Hirschfeld, Rosenau und Anderson, Gozony und Wiesinger, Lockemann und Thieß hervorgeht, sprechen wohl alle eindeutig in dem Sinne, daß man es hier mit einem einheitlichen Antigen zu tun hat. So verlockend es wäre, auf Einzelheiten, namentlich auf die Anaphylaktogene der Plazenta und des Fruchtwassers und die daraus abgeleitete Erklärung der Eklampsie, oder auf die Ver-



wendung der anaphylaktischen Reaktion zur Eiweißdifferenzierung ausführlicher einzugehen, muß ich mir dies doch versagen, um so mehr als die Titel der angekündigten Vorträge Ihnen ohnedies genauere Aufklärung über manche dieser wichtigen Themen versprechen. Ich resümiere also nur, daß körperfremdes Eiweiß ein Antigen darstellt, und daß die verschiedenen Methoden zu seinem Nachweis, wie Präzipitation, Cytolyse, Komplementablenkung in vitro und das anaphylaktische Phänomen in vivo nur ebenso viele Reaktionen zum Nachweis eines Stoffes repräsentieren, Reaktionen, die natürlich, worauf Friedberger, heute auch Herr Friedemann und ich hinwiesen, einen sehr verschiedenen Feinheitsgrad besitzen und daher auch differente Resultate liefern können. Es ist nicht einmal berechtigt, einen allgemeinen Parallelismus der diversen Immunitätsreaktionen des Eiweißantigens zu verlangen, da bei manchen, z. B. bei der Komplementablenkung eine Reihe von sehr variablen, z. T. noch unbekannten Faktoren die vitro-Vorgänge beherrschen und beeinflussen. Daß trotzdem der quantitative Parallelismus in recht weiten und befriedigenden Grenzen besteht, zeigen Versuche von mir und Ruß. Prüft man Eiweißlösungen, z. B. Sera, oder aus denselben durch Ammonsulfat ausgesalzene, wiedergelöste Globulin- oder Albuminfraktionen, durch mäßiges Erhitzen abgeschwächte Serumverdünnungen mit konstanten Präzipitinmengen auf ihren Gehalt an präzipitabler Substanz, und stellt man andererseits durch intravenöse Injektion von abgestuften Mengen derselben bei gleichartig sensibilisierten Meerschweinchen ihren Gehalt an Anaphylaktogen fest, so findet man ganz überraschende Uebereinstimmungen.

Angesichts dieser Tatsachen glaube ich nicht, daß diese monistische Auffassung des Eiweißantigens auf ernstlichen Widerstand stoßen kann. Was uns von demselben bekannt ist, die Spezifität, die Notwendigkeit, daß es einer anderen Tierart oder mindestens einem minderdifferenzierten Gewebe entstammt, die gleichartige Beeinflussung durch eiweißzerlegende Eingriffe, sind ihm eigen, ob wir es nun Präzipitinogen, Lysinogen oder Anaphylaktogen nennen. Auch die nachgewiesene Verschiedenheit der korrespondierenden Antikörper, der Präzipitine, Lysine und der anaphylaktischen Reaktionskörper wäre kein Grund, daran zu zweifeln, da wir noch immer denken könnten, daß das Eiweißantigen verschiedene Zellterritorien zur Bildung von verschiedenen Immunstoffen anregt. Nun ist uns aber über die Bildungsstätte der Präzipitine, Lysine usw. nichts Sicheres bekannt, und auch die Experimente von Braun, mir und Moldovan, sind nicht derart ausgefallen, daß die Produktion der anaphylaktischen Immunstoffe einem bestimmten Organ zugeschrieben werden könnte. Braun und ich vermuten nur vage, in Anlehnung an Petersson und Salimbeni, daß man die Leukocyten dafür verantwortlich machen könnte. Damit ist also nichts anzufangen. Fragen wir uns aber, ob denn eine Verschiedenheit der Eiweißantikörper überhaupt sicher nachgewiesen ist, so muß die Antwort verneinend lauten. Sie werden vielmehr sehen, daß den zahlreichen Analogien, welche für die Identität derselben sprechen, kein einziger stringenter Gegenbeweis gegenübersteht.

Zu diesem Zwecke wird es sich empfehlen, die wichtigsten Tat-



sachen, welche über diese Immunstoffe bekannt sind, hier kurz zu besprechen. Zur Gewinnung der anaphylaktischen Reaktionskörper eignet sich das Meerschweinchen, trotzdem es sich so leicht aktiv oder passiv sensibilisieren läßt, nur wenig. Es gelingt ja, mit dem Serum anaphylaktischer Meerschweinchen passiv normale zu sensibilisieren, doch sind meist größere Mengen 1—4 ccm erforderlich, wie die Durchsicht der Protokolle mancher Arbeiten zeigt, d. h. die Konzentration des Immunkörpers ist nur gering; in vielen Fällen geht es aber — wenigstens nach einmaliger Sensibilisierung — überhaupt nicht, wie ich in zahlreichen Versuchen selbst erfuhr. Das ist insofern nicht merkwürdig, als Meerschweinchen und Kaninchen z. B. auf Diphtherietoxin stark reagieren, aktiv und passiv immunisierbar sind, jedoch nie erhebliche Antitoxinmengen im Serum aufweisen. Vorzüglich geeignet ist dagegen das Kaninchen, von dem sich nach den zahllosen Versuchen von mir, Ruß und Moldovan, von Friedberger, Friedemann, leicht Sera gewinnen lassen, von denen 0,02—0,1 ccm gesunde Meerschweinchen derart passiv anaphylaktisch machen, daß die 24 Stunden später ausgeführte i. v. Reinjektion des korrespondierenden Anaphylaktogens sofortigen Exitus herbeiführt. Nun hat Friedberger, ich und Herr Friedemann in seinem so objektiven Referat darauf verwiesen, daß die Kaninchen auch jene Tierspezies sind, welche nach den ausgedehnten Erfahrungen von Uhlenhuth die besten d. h. wirksamsten Präzipitine und Cyto- speziell Hämolysine liefert. Das deutet zweifellos auf eine Identität aller dieser Antikörper hin. Ich konnte nun weiter in Gemeinschaft mit Ruß und später mit Moldovan an mehr als 20 verschiedenen Antieiweißseris vom Kaninchen den zahlenmäßigen Beweis liefern, daß Präzipitinmenge und Gehalt an anaphylaktischem Reaktionskörper absolut parallel gehen, daß man aus der vitro-Reaktion sogar den Ausfall des Experimentes bestimmen kann, d. h. daß jene Mengen von Immunserum und Eiweißantigen, welche im Reagenzglase Niederschlagsbildung liefern, auch bei passiver Versuchsanordnung zur Auslösung des Shocks genügen. Auch zeigte es sich, daß zur Ausflockung in vitro wie zur Erzeugung passiver Anaphylaxie stets beträchtliche Mengen Immunserum, Zehntel- oder in seltenen Fällen Hundertstel-Kubikzentimeter erforderlich sind, daß dagegen minimale Antigensspuren 0,001 ccm heterologen Serums beispielsweise ausreichen, um Präzipitate oder in vivo Shock hervorzurufen. Ganz ähnliche Analogien fand Friedemann zwischen der Hämolyse und der Blutkörperchenanaphylaxie am Kaninchen. Gleiches berichtet endlich Friedberger für die Serumanaphylaxie. Für Antieiweißsera vom Kaninchen haben sich also alle Argumente ausfindig machen lassen, die der Identität von Präzipitinen, Lysinen und Reaktionskörpern das Wort reden. Nicht so für die passiv anaphylaktisierenden Sera, die von Meerschweinchen stammen. Ich selbst habe, wie Friedemann heute hervorhob, mit meinen für die Wertbestimmung des anaphylaktischen Immunkörpers ausgearbeiteten Methoden solche Meerschweinchensera noch nicht untersucht, vorzüglich aus materiellen Gründen; aber andere Autoren, vornehmlich Otto, Kraus und Novotný, Braun, die vergleichende Experimente angestellt, fanden solche Sera, auch wenn sie nicht präzipitierten, reaktionskörperhaltig. Doch kann ich mich vorläufig nicht entschließen, diese

Angaben als beweisend anzusehen, da die Versuche der genannten Forscher, wie ich und Moldovan zeigte, meist in der Weise angestellt wurden, daß sie 0,1—0,2 ccm Meerschweinchenimmunserum auf Präzipitin in vitro, dagegen ein oder mehrere Kubikzentimeter im passiv anaphylaktischen Versuch auf Reaktionskörper prüften, was natürlich jeden Vergleich unmöglich macht. Ich halte daher diese Angelegenheit für unentschieden, möchte aber gegenüber Herrn Friedemann bemerken, daß im Serum von nach Theobald Smith sensibilisierten Meerschweinchen Braun Präzipitine nachgewiesen hat. Wenn sich aber auch durch exakte und einwandfreie Bestimmungen das Fehlen von Präzipitinen und komplementablenkenden Ambozeptoren in Antieiweißseris vom Meerschweinchen bei gleichzeitiger Existenz von anaphylaktischem Immunkörper ergeben würde, wäre das noch immer kein zwingender Beweis gegen die Identität. Nicht nur, daß das hochempfindliche Meerschweinchen vielleicht durch Mengen von Antikörpern passiv sensibilisiert wird, die in vitro nicht ausflocken, daß also das Tierexperiment, wie Friedberger, Friedemann u. a. annehmen, das feinere Reagens darstellt, besteht auch noch die Möglichkeit, daß die physikalischen Ausflockungsbedingungen in vitro bei Verwendung von Kaninchenimmunserum andere und günstigere sein können, als bei Benutzung von Meerschweinchenimmunsera, um so mehr, als wir wissen, daß solche Kolloidreaktionen durch geringe Aenderungen der reagierenden Faktoren stark alteriert werden. Für die Identität von präzipitierenden und anaphylaktischen Immunkörpern spricht weiter noch, daß weiße Mäuse gar nicht, Hunde nur schwer Präzipitine und Reaktionskörper bilden; ferner kann man nach Braun, Friedemann und meinen Versuchen den Antieiweißseris durch geformtes Antigen (wie Erythrocyten, eiweißbeladene Bakterien, Kohle, Kreide), Präzipitin oder lytischen Ambozeptor und Reaktionskörper gleichzeitig und in proportionalen Mengen entziehen. Schließlich, und diese Tatsache scheint mir am eindeutigsten, konnte ich mit Ruß noch folgenden Nachweis erbringen: Die Anaphylaxie ist eine Antigen-Antikörperreaktion in vivo, das beweist die passive Versuchsanordnung, die Präzipitation ist ein analoges Phänomen in vitro. Wenn es nun wahr ist, daß Antigen und Antikörper in beiden Fällen dieselben sind, dann ist auch notwendig, daß das Reaktionsprodukt hier und dort dasselbe ist, d. h. das in vitro entstandene, sorgfältig gewaschene Präzipitat muß beim normalen Tier die Erscheinungen der Anaphylaxie auslösen, und das gelingt nun in der Tat, wie auch Friedberger bestätigte. Meerschweinchen, denen man solche gewaschene Präzipitate intravenös einspritzt, bekommen sofort oder in längstens 5—10 Minuten Krämpfe, Dyspnoe, Abgang von Kot und Urin und liegen agonal da; nur trat in meinen Versuchen der Tod nicht sofort, sondern erst nach Stunden ein. Das hat auch Friedberger bestätigt. Ja noch mehr: Bereitet man Mischungen von Rinderserum und Antirinderserum vom Kaninchen und variiert die Mengenverhältnisse von Antigen und Immunserum, so ergibt die endovenöse Einspritzung der Gemische nur dann anaphylaktische und wie ich betone auch schwere Symptome, wenn sich in vitro Präzipitation zeigte. Blieb sie aus wegen zu starker Verminderung einer Komponente, so vermochte das Gemisch auf das normale Tier nicht zu wirken.



Damit verlasse ich die Diskussion über die Identität von Präzipitin und anaphylaktischem Immunkörper und möchte nur kurz noch die Nicollesche Einteilung in Koaguline und Lysine erwähnen. Ich halte sie nicht für zweckmäßig, schon aus dem Grunde, weil die eigentlichen Immunstoffe gar nie lytisch wirken, sondern stets nur das immunisatorisch gar nicht steigerungsfähige Komplement. Damit entfällt besonders für das gelöste Eiweiß als Antigen jede Notwendigkeit neben koagulierenden Präzipitinen besondere Albuminolysine, die dann mit dem anaphylaktischen Immunkörper identisch wären, zu unterscheiden. Bei der weitgehenden, von Friedberger, Friedemann, mir und anderen sogar als Identität gedeuteten Uebereinstimmung der anaphylaktischen und der anderen Antikörper des heterologen Eiweißes, wird es uns nicht wundernehmen, wenn auch die ersteren ebenso wie die Lysine und nach Gay und Moreschi die Präzipitine Ambozeptortypus besitzen, d. h. bei ihrer Vereinigung mit dem korrespondierenden Anaphylaktogen Komplement an sich reißen. Da nun der anaphylaktische Shock nichts anderes sein kann, als die Antigen-Antikörperreaktion in vivo, so müßte man einen dabei stattfindenden stärkeren Komplementverbrauch leicht dadurch nachweisen können, daß im Shock der Komplementgehalt im Blute des Versuchstieres eine Abnahme erfährt. Fleischmann und Michaelis, Sleeswijk, Friedberger und Hartoch, ich und Moldovan sowie Ruß, Scott, haben nun in zahllosen, an Kaninchen, Meerschweinchen, Hunden, Vögeln ausgeführten Versuchen gezeigt, daß dies tatsächlich der Fall ist. Friedberger und Hartoch gebührt aber das Verdienst, gezeigt zu haben, daß dieser Komplementverbrauch im anaphylaktischen Shock konstant ist, daß er schon wenige Minuten nach intravenöser Reinjektion auftritt, und, was das wichtigste ist, daß alle Symptome ausbleiben, wenn man künstlich die Reaktionsfähigkeit des Komplements aufhebt. Das ist nach älteren vitro-Versuchen in hypertonen Salzlösungen der Fall; macht man nun bei aktiv oder passiv anaphylaktischen Meerschweinchen durch geeignete Kochsalzdosen das Blut vorübergehend hyperton, so bleibt der Komplementschwund bei der Reinjektion von Antigen aus, oder er ist minimal, und die „Salztiere“ zeigen keine Symptome, sie überleben, während Kontrollen verenden. Einen weiteren schönen Beweis für den Ambozeptortypus des anaphylaktischen Immunkörpers und die essentielle Rolle des Komplementes im Shock brachten Uhlenhuth und Haendel und Friedberger und Hartoch. Sie fanden, daß man Säuger z. B. Meerschweinchen passiv nicht mit einem vom Vogel, z. B. vom Huhn stammenden Antieiweißserum anaphylaktisch machen kann und umgekehrt. Da sich nun Säuger aktiv mit Vogeleiweiß und Vögel mit Säugereiweiß sensibilisieren lassen, kann der Grund wohl nur darin liegen, daß ein vom Säuger stammender Ambozeptor durch Vogelkomplement nicht aktivierbar ist und umgekehrt, wie schon alte vitro-Experimente von Wechsberg gelehrt haben. Damit erscheint die Bedeutung des Komplementes für das Zustandekommen anaphylaktischer Symptome erhärtet. Jusen Tsuru hat zwar unter Leitung von Kraus das Gegenteil zu beweisen versucht, ohne auf die Salzexperimente und auf das gegenseitige Verhalten von Säugern und Vögeln Rücksicht zu nehmen. Er fand nämlich, daß große Dosen von Hunde- und Kaninchenserum schon bei normalen Meer-



schweinchen Komplementschwund hervorrufen; aber Sleeswijk und ich haben neuerdings dargetan, daß dies eben nur für große Dosen, nicht aber für jene kleinen Quantitäten gilt, wie sie zur Erzeugung des anaphylaktischen Shocks ausreichen, daß dieser Komplementschwund beim normalen Tier nach **Pferdeserum** ausbleibt, während ihn dasselbe Serum beim anaphylaktischen Meerschweinchen hervorruft, und daß Tsuru mit technischen Mängeln operierte, indem er zu viel Komplement und zu wenig Ambozeptor bei seinen Titrationen benutzte. Ich komme übrigens auf Tsurus Ergebnisse noch in einem anderen Zusammenhange zurück.

Suchen wir uns nunmehr ein Bild vom Mechanismus des anaphylaktischen Shocks zu machen. Die Vereinigung von Eiweißantigen, zugehörigem Immunambozeptor und Komplement ist dem Gesagten zufolge seine Ursache. Das wird von fast allen Seiten so gedeutet, daß aus der gegenseitigen Einwirkung der drei Komponenten ein in Lösung gehendes, hochwirksames Gift entsteht, für welches Friedberger den Namen „Anaphylatoxin“ geprägt hat. Dafür spricht schon die Tatsache, daß aus der Verbindung des an sich ungiftigen Anaphylaktogens mit dem gleichfalls ungiftigen Immunserum eine toxische Substanz entsteht, wie das Richet für Hunde, Friedemann für Kaninchen, ich und Ruß für Meerschweinchen gezeigt haben; der dritte Faktor, das Komplement, ist ja im Tierkörper stets reichlich disponibel. Während aber solche Gemische bei Hunden und Kaninchen nach Richet und Friedemann volle Wirkung entfalten, ist dies nach meinen Versuchen, sowie denen von Biedl und Kraus, beim Meerschweinchen nicht der Fall. Hier wirkt die präventive Injektion des Immunkörpers und nach einigen Stunden erfolgende sukzedane des Anaphylaktogens ungleich stärker als die Injektion von Gemischen oder aus denselben isolierten Präzipitaten. Niemals erfolgt in letzterem Falle der Tod. Worauf das beruht, vermag ich Ihnen nicht zu sagen, und gestehe gerne, daß die früheren Erklärungsversuche von Friedberger und mir, die eine Verankerung des Immunkörpers an das Zentralnervensystem als für die Vollwirkung unentbehrlich annahmen, durch neue Versuche überholt und hinfällig geworden sind. Uebrigens hat diese Erscheinung, welche im Anfange die größten Schwierigkeiten bereitete, viel an Interesse eingebüßt, da sie eben nur für das Meerschweinchen und nicht für das Kaninchen gilt, und da es Friedberger, wie bekannt, glückte, auch für Meerschweinchen vollwirksames anaphylaktisches Gift durch Digestion gewaschener Präzipitate mit großen Komplementmengen zu erzielen. Das Gift wird hierbei aus dem Präzipitat durch das Komplement in Lösung gebracht. Aehnliche Experimente hatte schon früher Friedemann am Kaninchen ausgeführt. Er ließ auf Rindererythrocyten den zugehörigen Ambozeptor und Komplement wirken und zentrifugierte, bevor noch Lyse eingetreten war. Die Abgüsse riefen bei normalen Kaninchen Symptome hervor; blieb in der Mischung das Komplement weg, so waren die Abgüsse atoxisch.

Was ist das nun für ein Gift und auf welche Organe wirkt es? Ueber seine chemische Natur können wir nur die Vermutung äußern, daß es in die Klasse der toxischen Eiweißkörper gehört. Es ist ja bekannt, daß durch Aufspaltung nativer, ungiftiger Eiweißkörper Gifte gebildet werden können, wie u. a. Vaughan und Wheeler gezeigt haben, und es ist leicht vorstellbar, daß die verdauende oder Ferment-



wirkung des Komplementes aus der Verbindung von Eiweißantigen und Ambozeptor solche Giftstoffe abspaltet. Doch ist ihre Darstellung auf rein chemischem Wege zurzeit noch nicht realisiert und die dahin abzielenden Experimente von Vaughan und Wheeler, Mary Leach u. a. können nicht als positive Lösung des Problems bezeichnet werden. Bei der Bakterienanaphylaxie hat man seit Wolff-Eisner, Nicolle, Bail und Weyl geglaubt, daß die durch Autolyse, Zerreiben, Auslaugen usw. darstellbaren sog. Endotoxine das anaphylaktische Gift darstellen, welches durch Auflösung der Leiber mit Hilfe von Komplement und lytischen Ambozeptor in Freiheit gesetzt wird. Das kann nun nicht richtig sein, da auch ungiftige Bakterien Anaphylaxie erzeugen, und da die künstlich in Lösung gebrachten Endotoxine der giftigen Bakterien keine akute, mit der anaphylaktischen vergleichbare Shockwirkung (auch nicht in erheblichen Quantitäten) provozieren. Das Gift, welches den Phänomenen der Bakterienanaphylaxie zugrunde liegt, ist also auch hier nicht im Zelleib präformiert, sondern wird im Shock aus dem Protein der Zelle durch die kombinierte Einwirkung von Ambozeptor und Komplement neu gebildet.

Ob das Eiweißantigen oder das Immunserum als Muttersubstanz des Giftes zu betrachten ist, mag dahingestellt bleiben, sicher ist nur, daß bei geeigneten Mengenverhältnissen das Antigen aus dem Reaktionsvolum eines Gemisches völlig verschwindet, also verbraucht wird (Doerr und Moldovan).

Um die Erforschung der Giftwirkung in physiologischer Beziehung haben sich Biedl und Kraus, sowie Auer und Lewis, Friedberger, Braun verdient gemacht. Der anaphylaktische Shock zeigt äußerlich bei allen Tieren ein ähnliches Bild; Dyspnoe, starke als Somnolenz oder Koma auftretende Trübungen des Sensoriums, Krämpfe, Abgang von Kot und Urin, Erbrechen stehen im Vordergrund. Biedl und Kraus zeigten an Hunden, daß stets im Shock eine typische Senkung des arteriellen Blutdruckes eintritt, die nicht auf einer Herzlähmung, sondern auf einer enormen Erweiterung der Blutgefäße der Baucheingeweide beruht, eine Beobachtung, die Arthus, Abelous und Bardier, Achard und Aynaud für Hunde, Friedberger, Arthus, Scott am Kaninchen, Friedberger endlich auch am Meerschweinchen bestätigte. Sie führen diese arterielle Pression auf eine Lähmung des peripheren Vasomotorenapparates, und zwar der glatten Muskulatur oder der myoneuralen Endorgane zurück, wegen der antagonistischen Chlorbaryumwirkung, die übrigens, in parenthesi bemerkt, sehr inkonstant zu sein scheint. Diese Blutdrucksenkung betrachten Biedl und Kraus als das primäre und leiten daraus alle anderen Symptome ab. Sie nennen das anaphylaktische Gift Vasodilatin; da sie weiter fanden, daß Wittepepton auf Hunde ganz ähnlich wirkt, daß anaphylaktische Hunde durch Pepton gegen die Reinjektion des Antigens unempfindlich, also antianaphylaktisch werden und umgekehrt, so halten sie sich für berechtigt, im Pepton die Existenz desselben Vasodilatins, als eines bei peptischer Eiweißverdauung entstandenen giftigen Abbauproduktes anzunehmen. Allein Werbitzky und Wells konnten beim Meerschweinchen, weder beim normalen noch beim anaphylaktischen Peptonwirkungen konstatieren, konnten auch bei sensibilisierten Tieren damit keine Antianaphylaxie erzielen. Nun müssen wir uns sagen:



beim Hunde wie beim Meerschweinchen entsteht das anaphylaktische Gift aus denselben Komponenten: Antigen, Antikörper und Komplement, entfaltet dieselben, höchstens graduell verschiedenen Effekte, ist also wohl in beiden Fällen dasselbe. Wenn nun Wittepepton beim Meerschweinchen gar nicht wirkt, so ist es schwer, die Existenz eines künstlich erzeugten Anaphylatoxins in demselben anzunehmen.

Für das Meerschweinchen haben übrigens Auer und Lewis im August 1909 gefunden, daß die so häufig beobachtete Dyspnoe auf einer tetanischen Kontraktion der glatten Bronchialmuskulatur beruht. Die mächtigen Atembewegungen führen nämlich zu keiner Erweiterung des Thorax, sondern im Gegenteil zu einer inspiratorischen Erziehung der Interkostalräume, es läßt sich direkt zeigen, daß keine Luft in den Thorax eintritt, und demgemäß bleibt auch die künstliche Respiration ohne Erfolg. Bei der Obduktion findet man dunkles Blut und Volumen pulmonum auctum. Durchschneidung der Vagi, der medulla oder des Rückenmarkes ändern nichts, so daß die Asphyxie offenbar peripheren Ursprunges ist. Die Wirkung des anaphylaktischen Giftes ist also ähnlich der des Pilokarpins, Physostigmins und wird auch tatsächlich durch präventive Einspritzung von Atropinum sulfuricum verhütet. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten neuerlich auch Biedl und Kraus, die Ihnen ja heute über die Details ihrer Experimente berichten werden, so daß ich mich in dieser Hinsicht auf das Angeführte beschränken darf. Ueber andere Befunde bei Hunde-, Kaninchen- und Meerschweinchenanaphylaxie, wie verzögerte Blutgerinnung, plötzliches Absinken der Leukocytenzahl nach Weiß und Tsuru gehe ich gleichfalls kurz hinweg. Ebenso muß ich es mir versagen, den schon von Wolff-Eisner erwähnten, von Pfeiffer, Finsterer und Mita in diagnostischer Hinsicht verwerteten Temperatursturz, der von Ranzi, Elias u. a. angezweifelt, von anderen wie Friedberger als konstantes Phänomen bestätigt wurde, ausführlicher zu besprechen, um so mehr als diese im Tatsächlichen kontroverse Frage wohl nur durch ausgiebige Nachprüfung entschieden werden kann.

Schließlich möchte ich nur noch auf einen Punkt mit ein paar Worten eingehen. Wir sind zu der Auffassung gelangt, daß Eiweißantigen, Antikörper und Komplement das anaphylaktische Gift bilden, welches beim Tiere die Symptome hervorruft, und haben diesen Ideengang für zwei Versuchsanordnungen verfolgt. Erstens für die sog. aktive Anaphylaxie, bei der wir dem Versuchstier die Bildung des Antikörpers überlassen und Antigen reinjizieren, zweitens für die passive Anaphylaxie, bei der wir den in einem anderen Organismus produzierten Immunkörper fertig zuführen und dann mit Antigen reagieren lassen. Es ist aber noch eine dritte Kombination möglich, die man zwar seit Belfanti und Carbone, Kraus und Sternberg, Metschnikoff u. v. a. kennt, deren Deutung als anaphylaktischer Prozeß aber erst durch die neueren Studien ermöglicht wird. Wir können nämlich einem Tier auch direkt ein gegen sein Serumeiweiß oder seine Erythrocyten gerichtetes Immunserum injizieren. Nach unserer Voraussetzung muß sich auch dann unter Komplementbeitritt Anaphylatoxin bilden. Wenn Sie also beispielsweise einem Meerschweinchen präzipitierendes oder hämolytisches Antimeerschweinchenserum vom Kaninchen einspritzen, müßte es anaphylaktische Symptome bekommen, und das ist tatsächlich



der Fall. Dasselbe wird natürlich eintreten, wenn man Normalsera injiziert, die normale Präzipitine oder was häufiger ist, normale Hämolysine für Meerschweinchen enthalten, wie Aalserum, frisches Rinderserum, Hundeserum, ja normales Kaninchenserum in großen Dosen. Ich bin gerade beim Abschlusse einer ausführlichen Arbeit mit Moldovan angelangt, in welchen diese Verhältnisse für Meerschweinchen ausführlich studiert und ihre anaphylaktische Natur motiviert wird. Wir fanden eine absolute Uebereinstimmung der Symptome, Dyspnoe, Abgang von Kot und Urin, Krämpfe, Exitus in wenigen Minuten. Die Dyspnoe hatte den von Auer und Lewis, sowie von Biedl und Kraus beschriebenen Typus; injizierte man vorher 5 mg Atropin, so blieb sie aus, die Tiere, welche sicher letale Dosen von Meerschweinchenhämolysin, Präzipitin, von frischem Rinderserum, ja von Aalserum erhalten hatten, zeigten zum Unterschiede von den schwer reagierenden und nach Minuten verendenden Kontrollen keine Symptome und überlebten dauernd. In zahlreichen Experimenten sank der Titer des Komplementes konstant, woraus sich auch Tsurus' Befunde mit großen Dosen cytotoxischer Normalsera erklären. Durch Adsorption mit Meerschweinchenerythrocyten konnten die Sera entgiftet werden, die Abgüsse waren wirkungslos, die immunkörperbeladenen Erythrocytensedimente wirkten tödlich usf. Damit ist es für mich gewiß, daß diese längst bekannten Wirkungen cytotoxischer Sera nichts anderes sind als Anaphylaxie und habe ich für die Normalsera dieser Ueberzeugung als Erster Ausdruck gegeben. Man könnte bei den Hämolysinen die Schädigung und Auflösung der Blutkörperchen verantwortlich machen. Aber der Tod erfolgt vor jeder Lyse, aufgelöste z. B. durch Aq. dest. hämolysierte Blutkörperchen wirken auch in großen Dosen nicht, und außerdem hat ja Friedemann gezeigt, daß das Freiwerden anaphylaktischen Giftes aus Erythrocyten durch Ambozeptor und Komplement vor der Lyse in vitro erfolgt.

Damit schließe ich in dem Bewußtsein, bei der Kürze der Zeit mehr einen generellen, durch eine einheitliche Auffassung getragenen Ueberblick, als ein vollständiges Referat geliefert zu haben; sollte es den diskussionellen Meinungsaustausch fördern, so wären meine daran geknüpften Erwartungen vollständig erfüllt.

Vorträge.

I. A. Biedl u. R. Kraus (Wien):

Ueber Kriterien der anaphylaktischen Vergiftung.

I.

In seiner kritischen Uebersicht über den gegenwärtigen Stand der Lehre von der Anaphylaxie betont Doerr, daß wir als Reagens zur



Beobachtung anaphylaktischer Vorgänge bis jetzt nur den Tierversuch kennen. Die Ursache dafür, daß wir bei der Erklärung anaphylaktischer Vorgänge heute noch viele divergierende Hypothesen antreffen, ist seines Erachtens in erster Reihe in der heterogenen Methodik zu suchen. „Das Operieren mit bestimmten Eiweißstoffen, die Verwendung einer bestimmten Tierart, etwa des hochgradig empfindlichen Meerschweinchens, die gleiche Art der Sensibilisierung und der toxischen Reinjektion hätte — nach Doerr — zu Entscheidungen geführt, wo heute nur Kontroversen existieren.“

Tatsächlich wird jeder, der auf dem bereits heute so ausgedehntem literarischen Felde der Anaphylaxie Umschau gehalten und die Probleme und deren Lösungsversuche in nähere Erwägung gezogen hat, konstatieren können, daß hier ein Mangel an Klarheit und Objektivität in der Darstellung der tatsächlichen Befunde, ein Fehlen der Kritik bei der Beurteilung und beim Erwägen positiver und negativer Resultate gegeneinander, insbesondere aber öfters voreilige Verallgemeinerungen anzutreffen sind. Die Auffassung Doerrs von der allein heilbringenden Bedeutung eines Testobjektes, an welchem man zunächst alle prinzipiellen Momente hätte festlegen sollen, dürfte allerdings weniger Zustimmung finden. Sehen wir doch auch bei allen anderen naturwissenschaftlichen Fragen, daß nur die Beobachtung und der Vergleich verschiedener Objekte und unter verschieden variierten Versuchsbedingungen uns nähere Aufklärungen über das Wesen der Erscheinungen zu liefern vermag. Die Ursache der in der Anaphylaxiefrage noch bestehenden Unklarheiten können wir demnach nicht in technischen Mängeln und Ungleichmäßigkeiten, nicht in dem Umstande, daß neben Meerschweinchen auch Kaninchen und Hunde zu den Versuchen verwendet, daß die verschiedenartigsten Antigene in den verschiedenen Applikationsformen studiert worden sind, erblicken. Sie liegt unseres Erachtens vielmehr darin, daß man zuerst den Begriff der Anaphylaxie als einer nach der Einführung artfremder eiweißartiger Substanzen entstandenen spezifischen Ueberempfindlichkeit für dieselbe Substanz aus der Beobachtung abgeleitet, dann aber in so ungenügender Weise abgegrenzt hat, daß die differentesten Erscheinungen wahllos unter denselben Begriff subsummiert werden konnten. Man ging nun daran, eine Erklärung der anaphylaktischen Erscheinungen zu suchen und, wie wir sehen, wähnten manche bereits eine umfassende Theorie der Anaphylaxie geben zu können, ohne vorher die für jede Erklärung unerläßlich notwendige Basis, eine klare und detaillierte Beschreibung der Erscheinungen zu besitzen. Doerr sagt selbst, man kennt als Reagens zur Beobachtung anaphylaktischer Vorgänge bis jetzt nur den Tierversuch, muß aber bekennen, daß man sich damit begnügt hatte, die Symptome des anaphylaktischen Shocks in ziemlich oberflächlicher Weise zu beschreiben. Wenn man sich aber begnügt, nicht näher geschilderte und toxikologisch nicht näher analysierte Komplexe von Erscheinungen als anaphylaktischen Shock zu bezeichnen, dann darf man sich nicht wundern, wenn so viele unausgeglichene Gegensätze nicht nur in hypothetischer, sondern auch in tatsächlicher Hinsicht bestehen. Hat man doch vorerst nicht einmal die Gewähr dafür, daß in den Berichten über anaphylaktische Erscheinungen stets derselbe Symptomenkomplex gemeint wird. Nach den Erfahrungen, welche wir

bei der Prüfung vorliegender Angaben machen konnten, können wir sogar mit Sicherheit behaupten, daß nicht allzu selten von Anaphylaxie gesprochen wird dort, wo das Fehlen wesentlicher Charaktere des anaphylaktischen Shocks gar nicht zweifelhaft sein kann. Doch abgesehen von solchen vielleicht nur auf das Konto des Einzelnen zu stellenden Irrtümern hatte der Mangel einer exakten Beschreibung der anaphylaktischen Erscheinungen noch die viel schwerwiegendere Konsequenz, daß der Anaphylaxiebegriff seine nach einer Richtung wenigstens unumstrittene und anerkannte Klarheit im Gewirre der Hypothesen verlor. Man definierte die Anaphylaxie als einen pathologischen Vorgang, welcher bei dem Zusammentreffen von Antigen (Anaphylaktogen) mit einem immunisatorisch im Organismus entstandenen Reaktionskörper zur Beobachtung gelangt. Diese Definition ist eigentlich nur eine Umschreibung der beobachteten Tatsachen.

Nun soll es sich aber einer Theorie zuliebe nicht nur bei den bekannten Versuchsanordnungen der aktiven und passiven Anaphylaxie, sondern noch bei einer Reihe von anderen zum Teil schon lange bekannten Vorgängen um Anaphylaxie handeln. Die Theorie erfordert es und so wird erklärt, daß immer dann, wenn man einem Tier ein gegen sein spezifisches Körpereiweiß gerichtetes Antiserum injiziert, ein anaphylaktischer Shock eintritt. Friedberger, Doerr und Moldovan haben die nach Injektion von Präzipitinen eintretenden Phänomene ganz allgemein als anaphylaktische bezeichnet und die Giftwirkung präcipitierender Sera mit der Serumanaphylaxie als wesensgleich erklärt. Mit den Argumenten für diese Annahme werden wir uns noch später befassen. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß eine solche Identifizierung zweier Erscheinungen zunächst doch einen genaueren symptomatologischen Vergleich zur Voraussetzung hat, doch vermissen wir außer einigen ganz allgemein gehaltenen Bemerkungen jede nähere Angabe über die klinischen Erscheinungen.

Es wurden ferner auch die Erscheinungen, welche man an Tieren nach Injektion von gegen ihre eigenen roten Blutkörperchen gerichteten Hämolysinen beobachten kann, von Friedemann als anaphylaktische angesehen, und trotz der Einwände von Kraus sagt auch Doerr „sie sind natürlich anaphylaktisch“. Die Möglichkeit mit fremden Erythrocyten als einem artfremden Eiweiß zu sensibilisieren und eine Blutkörperchenanaphylaxie zu erzeugen, kann a priori wohl nicht bestritten werden, doch muß wohl jeder zugeben, daß die Existenz einer Blutkörperchenanaphylaxie erst dann bewiesen ist, wenn ihre Spezifität dargestellt wird, wenn gezeigt wird, daß die anaphylaktischen Erscheinungen nur durch Reinjektion von Erythrocyten und nicht etwa durch Seruminjektion allein hervorgerufen werden. Dieser Beweis liegt bei Friedemann noch nicht vor, es muß demnach als durchaus gerechtfertigt angesehen werden, wenn Kraus unter Hinweis auf seine Erfahrungen über die Wirkung hämolytischer Sera strengere Kriterien für die Blutkörperchenanaphylaxie gefordert hat. Die Existenz einer Blutkörperchen-Anaphylaxie hat Thompson seither erwiesen. Die Diskussion über ihre Existenz wäre aber wohl vermieden worden, wenn über jene Symptome, welche dem Bilde der Anaphylaxie angehören, genügende Klarheit geherrscht hätte.

Hatte man es bei der sogenannten Erythrocytenanaphylaxie noch mit Versuchen zu tun, welche nach ihrer Anordnung (Sensibilisierung



und Reinjektion) zur Anaphylaxie zu rechnen waren, so gelangte man auf Grund der Theorie Friedbergers schließlich dahin, alle Erscheinungen, welche durch ein gegen das Körpereiweiß des Tieres gerichtetes Antiserum ausgelöst werden, ohne weiteres als Anaphylaxie zu erklären. Unter Antiserum versteht aber Doerr gewisse Normalsera, welche für andere Tierspezies giftig sind, indem sie die roten Blutkörperchen schädigen, beziehungsweise auflösen. Bisher hat man mit Recht in der Hämolyse die Ursache dieser übrigens auch klinisch gut charakterisierten Vergiftung nach der intravenösen Injektion von solchen Seris erblickt. Jetzt wird dieses Vergiftungsbild zur Anaphylaxie hinzugezählt. Nachdem wir aber wissen, daß völlig gleiche Krankheitsbilder, wie durch giftige heterologe Sera auch durch andere hämolytisch wirkende Substanzen unter anderem auch durch intravenöse Injektion von destilliertem Wasser erzeugt werden können, müßte man folgerichtig in der Wirkung eines jeden gegen das Körpereiweiß gerichteten Giftes einen Spezialfall der Anaphylaxie erblicken können. Das zellige Antigen wird ja stets vom Versuchstier geliefert und auch der Komplementschwund, den Doerr und Maldovan nach der Injektion hämolytischer Sera fanden und mit Friedberger für die Anaphylaxie charakteristisch hielten, dürfte nachweisbar sein.

Das Bestreben eine Theorie zu stützen, führt also schließlich dazu, in den Zellen des Organismus, welche bei jeder Vergiftung den Angriffspunkt des Giftes bilden, ein zelliges Antigen und in jeder Vergiftung schließlich eine Anaphylaxie zu erblicken.

Diese Verwischung des Anaphylaxiebegriffes wäre vermieden worden, wenn man bei der Anaphylaxie, so wie es von jeher bei jeder Vergiftung geschah und bei der Prüfung einer jeden neuen Giftsubstanz stets noch geschieht, zunächst das Vergiftungsbild in erschöpfender Weise beschrieben und klar definiert hätte. Nur durch die Außerachtlassung dieser Hauptprinzipien der toxikologischen Forschung ist diese Verwirrung in der Anaphylaxielehre entstanden. Es fällt wohl niemandem ein bei der Vergiftung mit Blausäure oder mit Strychnin oder mit einer unbekannten Giftsubstanz zuerst eine Erklärung zu suchen, bevor nicht eine klare Schilderung der klinischen Symptome und des pathologisch-anatomischen Befundes vorliegt. Würde man in der Toxikologie so wie es bei der Anaphylaxie vielfach geschehen ist, nur die Reaktion und das Zugrundegehen der Tiere als Kriterien für eine spezifische Intoxikation betrachten, dann könnte man zu einer Annahme von Wesensgleichheit bei Vergiftungen gelangen, die miteinander nicht das mindeste zu tun haben. Es wird wohl jeder zugeben, daß gerade unbekannte Giftsubstanzen eine besonders scharfe Präzisierung der Symptomatologie erfordern.

Nach dieser Erörterung wird man uns zustimmen, wenn wir sagen, daß Theorien und Hypothesen zu einer Klärung in der Frage der Anaphylaxie solange nicht führen werden, bis man die Symptome dieser Erkrankung nicht klar und scharf umgrenzt haben wird.

II.

Von solchen Erwägungen ausgehend haben wir ein näheres Studium der Symptomatologie der Anaphylaxie unternommen, wobei wir uns zu-



nächst an die ursprüngliche Begriffsbestimmung der Anaphylaxie hielten. Bis zur Feststellung des toxikologischen Bildes kann nur die aktive und passive Anaphylaxie im ursprünglichen Sinne in Betracht kommen. Den Gegenstand weiterer Untersuchungen muß dann die Frage bilden, ob auch Versuchsanordnungen, welche auf andere Weise angeblich anaphylaktischen Shock auslösen sollen, dem Symptombilde und dem Sektionsbefunde nach zur Anaphylaxie zu rechnen sind.

Wir können uns hier versagen die experimentelle Analyse der von uns zunächst studierten Serumanaphylaxie der Hunde ausführlich zu erörtern. Sie dürfte aus unseren Publikationen und unserem Vortrage auf dem vorjährigen Kongreß bekannt sein. Daß die von uns beschriebene Blutdrucksenkung, die Ungerinnbarkeit des Blutes und die von einer Leukopenie eingeleitete Leukocytose für die Anaphylaxie der Hunde charakteristisch sind, wurde von vielen Seiten bestätigt. Ausdrücklich wollen wir aber, wie schon im Vorjahr gegen Arthus, diesmal gegen Friedemann betonen, daß diese Erscheinungen durchaus spezifisch sind und daß sie, wie uns zahlreiche Kontrollversuche gelehrt haben, keineswegs als Wirkungen des heterologen Eiweißes zu betrachten sind. Die Richtigkeit dieser Versuche wird nicht, wie Friedemann sagt, erst durch die bestätigenden Versuche von Friedberger erwiesen. Friedbergers Bestätigung liefert Ergebnisse, die von uns niemals behauptet worden sind. Friedberger und Hartoch geben nämlich an, daß auch beim Kaninchen und Meerschweinchen die anaphylaktische Blutdrucksenkung nicht vermißt wird. Wie wir schon im Vorjahr erörtert haben, erscheint uns die sog. anaphylaktische Drucksenkung beim Kaninchen noch keineswegs erwiesen. Die Sensibilisierung der Kaninchen läßt bekanntlich häufig im Stiche, so daß diese Tiere für Versuche mit aktiver Anaphylaxie kaum geeignet sind. Auch in den Kurven Friedbergers sehen wir keinen typischen Druckabfall verzeichnet. Soweit wir selbst bei Kaninchen eine tiefe Drucksenkung, sowie Respirationsstörungen beobachten konnten, waren das stets Fälle, in welchen die Tiere innerhalb weniger Minuten zugrunde gegangen sind. Einen solchen von dyspnoischen Erscheinungen begleiteten Druckabfall können wir in Uebereinstimmung mit Braun nicht als charakteristisch für Anaphylaxie ansehen, sondern müssen denselben vorläufig als prämortale Erscheinung betrachten. Im ganzen glauben wir, daß es heute noch, solange nicht eine nähere Analyse der Kaninchenanaphylaxie vorliegt, nicht zweckmäßig erscheint, diese Tiere zur Entscheidung irgendwelcher Anaphylaxieprobleme heranzuziehen.

Was aber den Befund einer Blutdrucksenkung bei Meerschweinchen anbelangt, können wir demselbem angesichts der später zu erörternden Phänomene bei diesen Tier eine Bedeutung überhaupt nicht zuerkennen.

Die eigenartige Blutdrucksenkung ist, wie wir das von Anfang an betont haben, nur für den Hund charakteristisch, für das Kaninchen und das klassische Versuchstier, das Meerschweinchen, haben wir den anaphylaktischen Druckabfall niemals behauptet. Wir haben sogar auf die Verschiedenheit der Peptonwirkung bei diesen Tierarten ausdrücklich hingewiesen, so daß die Versuche von Werbitzky, in welchen er die Wesensverschiedenheit der Peptonwirkung und der Anaphylaxie beim Meerschweinchen nachweist, eigentlich nur uns Bekanntes und bereits



von uns Mitgeteiltes bestätigen. Ob damit auch die periphere Genese des anaphylaktischen Symptomenkomplexes entkräftet und die Annahme Besredkas, daß der anaphylaktische Shock im Zentralnervensystem ausgelöst wird, gestützt wird, werden wir späterhin noch erörtern.

Die experimentelle Analyse der Meerschweinchenanaphylaxie zeigt uns am deutlichsten, daß auf diesem Gebiete eine voreilige Generalisierung nur den Fortschritt der Erkenntnis hemmt. „Hypothesen zeigen" — wie Doerr sagt — „nur einen kleinen Geltungsbereich, wenn man die Experimente an anderen Tierspezies wiederholt." Das ist richtig. Doch erachten wir die Prüfung der Erscheinungen an verschiedenen Tierarten, wie wir schon eingangs auseinandergesetzt haben, gerade wegen der symptomatologischen Differenzen für dringend notwendig.

Bei der Serumanaphylaxie der Meerschweinchen stehen Veränderungen der Atmung im Mittelpunkte der Symptome. Die Tiere gehen bei der Reinjektion entsprechender Dosen im akuten anaphylaktischen Shock an Erstickung zugrunde. Die Respirationsstörungen, die bereits bei der Reinjektion minimaler Dosen in Erscheinung treten, entsprechen, wie dies Auer und Lewis zum erstenmal zeigen, und wir in eigenen Untersuchungen feststellen konnten, keineswegs einer gewöhnlichen Erstickung, sondern sind durch eine hochgradige Blähung und Starrheit der Lungen charakterisiert, die ihre Ursache in einem intensive Krampf der Bronchialmuskulatur haben. Die Verzeichnung der Atembewegungen aus der Trachea und die gleichzeitige Registrierung der Kontraktionen der Atemmuskulatur zeigen deutlich, daß intensive Kontraktionen der Atemmuskulatur bestehen, während das Lungenvolumen keine Schwankungen erfährt. Bei dem Versuch das Tier künstlich zu atmen, sieht man, daß es selbst bei Anwendung eines größeren Druckes unmöglich ist, Luft in die Lungen einzublasen, bzw. aus der Lunge auszusaugen. Beobachtet man die Schwankungen einer von vornherein künstlich geatmeten Lunge, so sieht man unmittelbar nach der Reinjektion eine Vergrößerung der Lungenexkursionen, welche aber sehr bald von einer allmählich annehmenden Verkleinerung gefolgt ist, bis dann ein Zustand eintritt, in welchem die maximal ausgedehnte Lunge durch die gleichzeitig weitergehende Einblasung und Aussaugung des Respirationsapparates keine Schwankungen des Volumens mehr erfährt. In dieser Phase bleibt auch die Herztätigkeit nicht mehr unverändert, solange aber noch kräftige Herzschläge vorhanden sind, bewirkt die intravenöse Injektion geringer Atropindosen, ein allmähliches Wiedereinsetzen der Lungenexkursionen, die dann zunehmen und endlich das Ausmaß vor der Seruminjektion nahezu vollkommen wieder erreichen können. Durch den Atropinversuch ist der sichere Beweis erbracht, daß die Lungenblähung und Starrheit durch eine tetanische Kontraktion der glatten Muskulatur der Bronchien hervorgerufen wurde. Hier sei nur noch kurz darauf hingewiesen, daß die völlig differente, ja entgegengesetzte Einwirkung der anaphylaktischen Reinjektion auf anscheinend dieselben Gewebselemente, nämlich die glatte Muskulatur, beim Hunde und beim Meerschweinchen keineswegs gegen die Identität des anaphylaktischen Giftes spricht, denn es erstreckt sich die antagonistische Wirkung des Giftes in beiden Fällen auf verschieden innervierte Gebiete, beim Hunde



auf die sympathisch innervierte Gefäßmuskulatur, beim Meerscheinchen auf die autonom innervierte Muskulatur der Bronchien.

Den klinisch wahrnehmbaren Veränderungen der Respiration entsprechen charakteristische anatomische Befunde. Die Lunge eines in der Anaphylaxie zugrundegegangenen Meerschweinchens ist von der eines auf sonstige Weise erstickten Tieres makroskopisch und mikroskopisch leicht zu unterscheiden. Die anaphylaktische Lunge ist aufgeblasen, kollabiert nicht, ist dabei blutarm. Histologisch erweisen sich die Alveolen maximal erweitert, die Lumina der größeren und kleineren Bronchien stark verengt, die Schleimhaut der Bronchien in Falten gelegt, die Kapillaren nahezu blutleer.

In neueren Versuchen haben wir nun feststellen können, daß auch die passive homologe und heterologe Anaphylaxie im wesentlichen die gleichen klinischen und anatomischen Veränderungen im Respirationsapparate des Meerschweinchens hervorruft, wie die aktive. Beobachtet man die Respirationsstörung und beachtet man den Lungenbefund, so kann man das Vorhandensein einer Ueberempfindlichkeit in sehr exakter Weise feststellen.

In bezug auf Bakterienanaphylaxie ist es bekannt, daß diese keineswegs konstant und ihr Vorhandensein anscheinend von der Art der Immunisierung abhängig ist. Auf Grund unserer neueren Versuche müssen wir die Forderung aufstellen, daß das Vorhandensein einer Bakterienanaphylaxie nur dann behauptet werden soll, wenn die typische Respirationsstörung, die allerdings hier verschiedene Grade der Intensität aufweisen kann, nachzuweisen ist. Andere Symptome, wie Mattigkeit der Tiere, vorübergehende zuweilen sich wiederholende leichte Muskelkrämpfe sind unseres Erachtens für das Vorhandensein der Anaphylaxie nicht beweisend.

III.

Die hier nur kurz erörterte experimentelle Analyse der Anaphylaxie beim Hunde und beim Meerschweinchen, die so gewonnene nähere Erkenntnis der Symptome des Vergiftungsbildes, ist unseres Erachtens unerläßlich notwendig, um zu einer Klärung der vielen strittigen Punkte in der Anaphylaxiefrage zu gelangen. Der Weg zu dem Verständnis ist allerdings jetzt noch vielfach durch Theorien verlegt.

Es sei uns daher gestattet, die im Vordergrunde der Diskussion stehende Theorie Friedbergers einer kritischen Besprechung zu unterziehen. Nach dieser Theorie soll das Präzipitinogen und das Sensibilisinogen identisch und der anaphylaktische Shock nichts anderes als ein Zeichen der stattgefundenen Präzipitinbildung sein.

Der erste Einwand von Kraus gegen die Friedbergersche Theorie bezog sich auf das Fehlen eines Parallelismus zwischen Präzipitinbildung und Anaphylaxie. Bei den mit geringen Serumdosen (0,05 und weniger) sensibilisierten Meerschweinchen ist eine Präzipitinbildung nicht nachzuweisen, dennoch ist das Meerschweinchen das klassische Tier für die Anaphylaxie. Beim Hunde ist die Präzipitinbildung sehr schlecht, die aktive Anaphylaxie der Hunde ist ein konstantes Phänomen.

Uhlenhuth und Haendel haben gefunden, daß es auf keine



Weise gelingt, Hühner (im Gegensatz zu Tauben und Enten) gegen Säugetier- oder Vögeleiweiß aktiv anaphylaktisch zu machen, trotzdem diese Tiere hochwertige Präzipitine bilden.

Die Unmöglichkeit, passive Anaphylaxie beim Vogel durch Reaktionskörper von Säugern oder umgekehrt zu erzeugen, erklärt Friedberger durch die Annahme, daß der Reaktionskörper kein passendes Komplement findet. Doch betonen Uhlenhuth und Haendel, daß ihre Beobachtungen nicht in dem von Friedberger gedachten Sinne verwertet werden können, denn Moreschi fand, daß präzipitierende Säugersera auch Vogelkomplement zu fixieren imstande sind. Wenn demnach ein Parallelismus zwischen beiden biologischen Reaktionen bestünde, müßte eigentlich die Auslösung passiver Anaphylaxie bei Vögeln durch präzipitierende Säugersera ebenso gelingen wie die Erzeugung aktiver Anaphylaxie.

Im Gegensatz zu den Meerschweinchen sind die Kaninchen bekanntlich gute Präzipitinbildner, eignen sich aber nur sehr schlecht für die aktive Anaphylaxie. Die passive homologe Anaphylaxie ist beim Kaninchen überhaupt nicht gelungen, weder Uhlenhuth noch Kraus. In neueren Versuchen von Kraus, in welchen wie schon früher (Kraus und Novotný) die quantitativen Verhältnisse berücksichtigt und größere Dosen injiziert und reinjiziert wurden, blieb die passive Anaphylaxie ohne Erfolg. Die heterologe Uebertragung von Kaninchen auf Meerschweinchen, und, wie wir zeigen konnten, auch auf Hunde, gelingt ohne weiteres.

In den Versuchen von Doerr und Ruß, sowie in neueren von Doerr und Maldovan wird wohl gezeigt, daß bei der passiven heterologen Uebertragung von Kaninchen auf Meerschweinchen ein Parallelismus zwischen dem Präzipitinwert und dem Gehalt an Sensibilisin des Kaninchenserums nachweisbar ist. Man wird also die Möglichkeit des Parallelismus im Kaninchenserum nicht in Abrede stellen können. Kraus hat auch nie bestritten, daß die anaphylaktische Reaktion mit der Fällungsreaktion in vitro parallel gehen kann, doch betont, daß daraus auf eine Identität beider Erscheinungen bzw. eine identische Natur der sie bedingenden Körper nicht geschlossen werden darf. Sieht man doch, daß bei der Fällungsreaktion mittels spezifischer Präzipitine mit dem Präzipitinogen auch Agglutinine und Antitoxine quantitativ gefällt werden (Hamburger und Dehne, Kraus und Přibram). Wie aus neueren Versuchen von Eisler und Tsuru hervorgeht, gelingt eine derartige quantitative Ausfällung mit eiweißabsorbierenden Substanzen wie Tierkohle, Kaolin, nicht.

Die Frage des Parallelismus wird übrigens neuestens in den Hintergrund gedrängt. Doerr und Moldovan sagen: „Selbst, wenn dieser weitgehende Parallelismus nicht gegeben wäre, wenn sich Sera fänden, die auch bei entsprechender Methodik nur in vivo aber nicht in vitro reagieren, müßte man mit der Negation der Identität von Präzipitin und anaphylaktischem Reaktionskörper doch vorsichtiger sein. Es ist die Möglichkeit gegeben, daß es bei hoher Empfindlichkeit der giftempfindlichen Zellen noch gelingt, im anaphylaktischen Experiment Präzipitinmengen nachzuweisen, welche in vitro nicht mehr unter Niederschlagsbildung reagieren. Umgekehrt werden minder empfindliche Tiere selbst durch hochwertige Präzipitinsera nicht passiv anaphylaxierbar sein, hier



ist der Reagensglasversuch das feinere Reagens." Zu dieser Art der Argumentation wäre folgendes zu bemerken. Wenn der Parallelismus von zwei Vorgängen und damit die Identität der sie auslösenden Substanzen behauptet wird, so muß sich diese Behauptung aus den Versuchen beweisen lassen. Den Mangel des Parallelismus in den Erscheinungen kann man nicht durch Annahmen, wie daß einmal der Tierversuch, das andere Mal der Vitroversuch das feinere Reagens sei, verdecken. Es gibt wohl Fälle, wo der Tierversuch zum Nachweise eines Agens das bessere Reagens darstellt. Es sei nur auf das bekannte Beispiel des muskarinisierten Froschherzens hingewiesen, durch welches Mengen von Atropin nachgewiesen werden können, die einem chemischen Nachweis nicht zugänglich sind. Der bei der Anaphylaxie vorliegende Fall ist aber mit dem hier angeführten nicht zu vergleichen. Was wir wissen, ist, daß das Meerschweinchen für die Anaphylaxie ein äußerst empfindliches Tier ist. Daß der Meerschweinchenkörper auch für das Präzipitin ein empfindliches Reagens sei, müßte erst bewiesen werden. Das zu Beweisende wird aber hier als ein Beweisstück angeführt. Eine solche Art der Beweisführung ist unter der Bezeichnung petitio principii bekannt und verpönt.

IV.

Die bereits einmal modifizierte Friedbergersche Theorie erfuhr eine neuerliche Modifikation dadurch, daß dem Verhalten des Komplements beim anaphylaktischen Shock eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Es war durch einige Beobachtungen nachgewiesen, daß der anaphylaktische Shock mit einer Komplementverarmung des Blutes einhergeht. Friedberger und Hartoch sahen bei der aktiven Anaphylaxie beim Meerschweinchen und Kaninchen eine geringe, bei der passiven heterologen Anaphylaxie (Kaninchen auf Meerschweinchen) eine hochgradige, bis zum völligen Schwund führende Abnahme des Komplements. Nach den Versuchen von Tsuru dürfte aber der Komplementverarmung des Organismus bei der Anaphylaxie eine große Bedeutung kaum zuerkannt werden. Denn einerseits ist die Abnahme des Komplements bei aktiver und passiver homologer Anaphylaxie selbst bei Anwendung großer Reinjektionsdosen und, wenn auch typische anaphylaktische Erscheinungen eingetreten sind, gering und inkonstant. Andererseits fand Tsuru auch nach Injektion von 0,5—1 ccm Hundeserum bei normalen Meerschweinchen Komplementschwund, ohne daß die Tiere Erscheinungen darboten.

Friedberger und Hartoch betrachten übrigens selbst die akute Komplementverarmung nicht als Ursache der Anaphylaxie, sondern meinen, daß ein ursächlicher Zusammenhang in dem Sinne besteht, daß das Komplement bei der Giftbildung eine Rolle spielt. Diese Annahme wird durch folgende Versuche zu stützen gesucht. Bekanntlich bleibt in hypertonischen Kochsalzlösungen in vitro die Hämolyse aus. Es wird angenommen, daß hierbei die Komplementbindung verhindert ist. Friedberger und Hartoch gingen nun daran, auch in vivo durch Injektion einer gesättigten Kochsalzlösung die Komplementverarmung zu verhindern und auf diese Weise aktiv und passiv sensibilisierte Meerschweinchen gegen die Wirkung der Reinjektion hoher Antigen-



dosen zu schützen. Dies soll den Autoren nach ihren Angaben gelungen sein. Die schützende Wirkung von sogenannten kleinen Kochsalzdosen, worunter Mengen von 0,3—0,4 cm^3 einer gesättigten, also 32—39,5 proz. Kochsalzlösung zu verstehen sind, war keineswegs befriedigend. Bei Anwendung von großen Salzdosen (0,6—1,5 ccm der saturierten Lösung) eventuell unter Zusatz von 1 Proz. Chlorkalzium blieb eine Anzahl (5 aktiv und 6 passiv anaphylaktische) Tiere länger als 12 Stunden am Leben. Allerdings ging auch von diesen Tieren ein Teil angeblich an den Folgen des operativen Eingriffes zugrunde. Die von Friedberger und Hartoch publizierten Blutdruckkurven vom Kaninchen, durch welche die schützende Wirkung der Salzinjektionen gezeigt werden soll, können wir nicht als beweisend ansehen. Kennen wir doch eine typische Eigentümlichkeit der anaphylaktischen Kurve beim Kaninchen bisher nicht und können demnach auch Veränderungen nicht beurteilen.

Bei der Nachprüfung dieser sehr interessanten Versuche konnten wir die Resultate Friedbergers an Meerschweinchen aus dem einfachen Grunde nicht bestätigen, weil wir selbst nach der vorsichtigsten Injektion der angegebenen Salzdosen kein Tier am Leben bleiben sahen. Wir konnten also begreiflicherweise auch die Wirkung der anaphylaktischen Reinjektion nicht prüfen. Aehnlich erging es uns bei Hundeversuchen. Einige Tiere sind entweder während oder unmittelbar nach der Infusion der Kochsalzlösung unter hochgradigem Druckabfall akut zugrunde gegangen. Ueber ähnliche Erfahrungen berichten übrigens auch Friedberger und Hartoch. Bei einem sensibilisierten Hunde von $9^1/_2$ kg sahen wir nach dem sehr langsamen Einfließen von 30 ccm gesättigter Kochsalzlösung eine tiefe Drucksenkung und dyspnoische Respiration. Dieses Tier erholte sich. Die sofort ausgeführte anaphylaktische Reinjektion erzeugte Exaltation, Blutdrucksenkung, Erbrechen, Kotentleerung, kurz das typische Bild der Anaphylaxie. Erst auf 0,02 g Chlorbaryum trat bei diesem Tier Druckanstieg und Erholung ein. Auf Grund dieser Erfahrungen können wir also die schützende Wirkung der großen Kochsalzdosen nicht anerkennen, können aber nicht bestreiten, daß durch das Kochsalz und noch mehr durch das zugesetzte Chlorkalzium die anaphylaktischen Erscheinungen in ähnlicher Weise beeinflußt werden können, wie die anaphylaktische Drucksenkung durch das vasokonstringierende Chlorbaryum oder der anaphylaktische Bronchialmuskelkrampf durch das lähmende Atropin.

V.

Im Mittelpunkt des Interesses stand von jeher die Frage nach der Natur des bei der Auslösung der Anaphylaxie wirksamen Körpers. Daß bei der Reinjektion eine toxische Substanz im Organismus entsteht, und daß die Anaphylaxie eine Vergiftung darstellt, wird von allen Seiten angenommen. Die Darstellung des Anaphylaxiegiftes ist zweifellos ein wichtiges Postulat. Dieses glaubt Friedberger erfüllt zu haben, nachdem es ihm gelang, aus dem Präzipitat unter Hinzutritt von frischem Meerschweinchenserum als Komplement eine giftige Substanz zu extrahieren, die er als Anaphylatoxin bezeichnet. Schon früher haben Doerr und Ruß gefunden, daß die in vitro hergestellten Präzipitate für normale Meerschweinchen toxisch sind. Eine nähere Schilderung der

hier wahrnehmbaren Erscheinungen geben diese Autoren nicht, doch heben sie hervor, daß niemals Exitus eintritt. In dem Anaphylatoxin von Friedberger liegt aber eine Substanz vor, welche den akuten Tod der Tiere herbeiführt. Auffallen mußte aber schon in den Versuchen von Friedberger der Umstand, daß sein Anaphylatoxin nur von der Blutbahn und nicht bei der Injektion ins Gehirn wirkt. Die zerebrale Reinjektion minimaler Serummengen löst nach Besredka bei sensibilisierten Tieren einen schweren anaphylaktischen Shock aus. Auch wir kennen aus eigenen Versuchen die Wirksamkeit der zerebralen Reinjektion beim Meerschweinchen und können betonen, daß die Erscheinungen, welche man nach der zerebralen Reinjektion beobachten kann, völlig gleich sind jenen nach der intravenösen Reinjektion. Es treten typische Respirationstörungen, Lungenblähung und Lungenstarrheit ein. Nebenbei sei bemerkt, daß durch diese Versuche die Annahme einer Auslösung der anaphylaktischen Symptome im Zentralnervensysteme auch für das Meerschweinchen widerlegt erscheint.

Die Tatsache, daß die Giftwirkung des Anaphylatoxins bei der Eintragung in das Gehirn fehlt und diese Substanz nur bei Einführung in die Blutbahn giftig ist, legt schon den Verdacht nahe, daß dieses Anaphylatoxin wohl ein Gift, aber nicht das Anaphylaxiegift sei. Nachdem wir nunmehr den anaphylaktischen Symptomenkomplex scharf charakterisieren können, konnten wir auch der Entscheidung der Frage nähertreten, ob die Giftwirkung, welche Doerr und Ruß durch Präzipitate auslösen konnten und weiters jener akute Tod, welchen Friedberger nach intravenöser Injektion von Anaphylatoxin eintreten sah, zur Anaphylaxie zu rechnen sind oder nicht. Mit Präzipitat (aus Pferdeserum) genau nach der Vorschrift von Doer und Moldovan bereitet, konnten wir auch dann keine Giftwirkung sehen, wenn das Doppelte der von ihnen angegebenen Dosis zur Anwendung gelangte. In jenen Versuchen, wo nach den Angaben von Doerr und Moldovan 3 ccm Kaninchenserum plus 0,3 ccm Rinderserum gemischt nach 5 Minuten Stehenlassen normalen Tieren injiziert wurde, sahen wir wohl Vergiftungserscheinungen und selbst den Tod der Tiere. Doch konnten wir den gleichen Erfolg mit demselben Kaninchenserum auch ohne Zusatz von Rinderserum erzielen.

Die Nachprüfung der Angaben Friedbergers führte im wesentlichen zu demselben Resultate. Nach der intravenösen Injektion des genau nach seinen Angaben gestellten Komplementextraktes aus dem Präzipitat, des sogenannten Anaphylatoxins gingen uns die Tiere zugrunde. Die Verzeichnung der Respiration zeigte jedoch keine für die Anaphylaxie charakteristischen Veränderungen, sondern bot dasjenige Bild, welches man bei einer gewöhnlichen Erstickung zu sehen bekommt. Die künstliche Atmung in der Phase der schwersten Respirationsstörung gelang bei diesen Tieren ohne Schwierigkeit. Ja es war uns möglich nicht nur die Fortdauer der Herztätigkeit, sondern in einigen Versuchen sogar ein Wiedereintreten der spontanen Atmung zu sehen.

Wir können aus diesen Versuchsergebnissen wohl mit Berechtigung den Schluß ziehen, daß das sogenannte Anaphylatoxin mit dem bei der Meerschweinchenanaphylaxie in Wirksamkeit tretenden Gift nicht identisch sein kann.



Wir sind am Schlusse unserer Ausführungen. Wie aus denselben zu ersehen ist, haben wir selbst auf die Aufstellung einer Anaphylaxie-theorie verzichtet. Wir hielten es zunächst für notwendig und auf Grund unserer Versuche glaubten wir uns berechtigt, die vorliegenden Hypothesen kritisch zu besprechen.

Bei den bestehenden wesentlichen Unterschieden im Symptomenbilde bei verschiedenen Tierarten schien eine generelle Hypothese kaum möglich. Unser in der ersten Mitteilung ausgesprochene Satz: „Die anaphylaktische Intoxikation wird durch ein Gift hervorgerufen, welches physiologisch als identisch zu betrachten ist mit dem Wittepepton" sollte ausschließlich für den Hund gelten. Beim Meerschweinchen wirkt das Wittepepton, wie wir schon lange wissen, stark toxisch, doch die Erscheinungen sind nach keiner Richtung jenen beim Hunde ähnlich.

Bei der näheren Prüfung des Vergiftungsbildes, welches man beim Meerschweinchen durch intravenöse Injektion von 0,25–0,3 g Pepton (in 10 Proz. wässeriger Lösung) hervorrufen kann, zeigte es sich aber, daß die Erscheinungen von seite des Respirationsmechanismus, das physiologische und anatomische Verhalten der Lunge völlig gleich waren den bei der Anaphylaxie wahrnehmbaren.

Es ergab sich eine vollkommene Identität in der Wirkung des Peptons und der bei der Anaphylaxie in Aktion tretenden toxischen Substanz auch beim Meerschweinchen.

Auf Grund dieser Feststellung gilt nunmehr der früher nur für den Hund aufgestellte Satz auch für das Meerschweinchen.

Hiermit ist zunächst der Nachweis erbracht, daß ein und dieselbe Substanz, das Pepton, bei verschiedenen Tierarten völlig differente, ja entgegengesetzte Wirkungen zu entfalten vermag. Diese Tatsache ist vom pharmakologischen Standpunkte interessant, steht aber keineswegs ohne Analogien da. Für die Anaphylaxiefrage erscheint damit die schon früher betonte Möglichkeit der Identität des anaphylaktischen Giftes so nahe gerückt, daß wir uns auf Grund dieser Feststellung für berechtigt halten, den früher nur für den Hund aufgestellten Satz auch zunächst auf das Meerschweinchen auszudehnen.

Um nicht selbst in den von uns selbst gerügten Fehler der voreiligen Verallgemeinerung zu verfallen, wollen wir vorläufig noch nicht weitergehen und wollen demselben eine allgemeine Gültigkeit noch nicht zuschreiben.

In der nunmehr auch für das Meerschweinchen nachgewiesenen Wesensgleichheit der Peptonwirkung und der Anaphylaxie erblicken wir eine gesicherte Grundlage einer künftigen Theorie der Anaphylaxie.



II. W. Weichardt (Erlangen).

Ueber einige Befunde der modernen Eiweißchemie in ihrer Beziehung zur Bakteriologie und Immunitätsforschung; mit besonderer Berücksichtigung der Anaphylaxiefrage.

In Ergänzung der Ausführungen von U. Friedemann will ich kurz erwähnen, daß tatsächlich schon im Jahre 1901 von mir am Schmorlschen Institute der Weg der Darstellung eines Anaphylaxiegiftes in vitro in zielbewußter Weise beschritten worden ist.

Kaninchen wurden damals von mir mit Synzitialeiweiß aus der Plazenta wiederholt injiziert, und das nach Wochen gewonnene gegen Synzitialeiweiß spezifische Serum der Tiere ganz frisch mit Synzitialeiweiß zusammengebracht. Die Mischung wurde 15 Stunden lang bei 37° gehalten. Das von Partikeln Getrennte erwies sich für unvorbehandelte Kaninchen als außerordentlich toxisch. Ein Teil der Tiere ging unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde. Die Tiere wurden genau pathologisch anatomisch untersucht. Diese Versuche sind in No. 35 der Deutschen med. Wochenschr. Jg. 1902 veröffentlicht.

Ich habe damals für dieses aus Synzitialeiweiß mittels seines spezifischen Serums hergestellte Anaphylaxiegift den Namen Synzitiotoxin geprägt, halte auch heute noch die Benennung derartiger Anaphylaxie erzeugender toxischer Substanzen nach der Eiweißart, aus der sie durch Einwirkung ihres spezifischen Serums entstanden sind, für zutreffender als den allgemeinen Namen Anaphylatoxin. Wird doch durch die Art dieser Bezeichnung gleichzeitig die Spezifität des Prozesses mit gekennzeichnet.

Daß diese Untersuchungen und der Name Synzitiotoxin für die aus Synzitialeiweiß entstehenden toxischen Substanzen in der Anaphylaxieliteratur nicht erwähnt werden, hat sehr einfach seinen Grund darin, daß der Name Anaphylaxie im Jahre 1901, als ich die betreffenden Versuche vornahm, überhaupt noch nicht geprägt worden war. Vorbildlich für meine damaligen Versuche waren die bekannten klassischen Pfeifferschen bakteriziden Cholerastudien und der daraus resultierende Endotoxinbegriff.

Im Jahre darauf, 1902, charakterisierte ich dann den Heufieberanfall als ebenfalls hervorgerufen durch Eiweißgifte, die aus Pollen durch ihr spezifisches Serum in Freiheit gesetzt werden.

Neuerdings habe ich nun in Erlangen, in Gemeinschaft mit Schittenhelm, ähnliche Versuche unter Zuhilfenahme besonderer Kriterien mit anderen Eiweißarten ausgeführt. Wir hatten hierfür im Stickstoffgleichgewicht gut eingestellte Hunde zur Verfügung. Mit diesen konnten wir zunächst die Friedemannschen Beobachtungen bestätigen. Wir selbst fanden ferner, daß der N-Gehalt des unveränderten Eiweißes einerseits und der des mit dem spezifischen anaphylaktisierenden Serum parenteral verdauten Eiweißes andererseits ein



vorzüglicher Maßstab dafür ist, wieweit Giftbildung stattgehabt hat. Unsere wirksamsten, durch Eiweißcytolyse gewonnenen Anaphylaxiegifte bewirkten hochgradig pathologische Erscheinungen schon bei minimalem N-Gehalt.

Die Anaphylaxieerscheinungen bei unseren Stoffwechselhunden waren übrigens andere wie bei Kaninchen. Besonders war die enorme Anregung der Peristaltik und Antiperistaltik der Verdauungsorgane auffällig — hochgradige Entleerungen sowie Erbrechen —. Dazu kam ein tsark soporöser Zustand. Der sonst muntere Hund reagierte auf starke Reize nicht mehr. Die für Meerschweinchenanaphylaxie so charakteristischen Krämpfe fehlten. Es ist nicht uninteressant, daß wir durch monatelange Behandlung mit in großen Dosen intravenös injiziertem Eiweiß einen antianaphylaktischen Zustand erzielen konnten, der sich darin äußerte, daß der Hund, trotz intravenöser Injektion hoher Dosen von Eiweiß nicht mehr mit soporösen Erscheinungen, sondern nur noch mit gesteigerter Peristaltik und Antiperistaltik reagierte. Also ist gegen gewisse Teile des Anaphylaxiegiftspektrums, und zwar m. E. gegen die höhermolekularen Eiweißabspaltungsprodukte, Immunisierung möglich.

Diese Symptome wurden durch die Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen, der Temperaturmessungen und der Untersuchung des Blutbildes ergänzt. Einzelheiten aller dieser hier nur kurz gestreiften Beobachtungen werden wir beide noch ausführlich veröffentlichen. Hier sei nur noch erwähnt, daß Störungen im Stoffwechsel, also Ausscheidung von mehr Eiweiß als dem enteral und parenteral eingeführten Quantum entspricht, nur bei Hunden gefunden wurden, die deutliche anaphylaktische Erscheinungen zeigten.

Bei der Herstellung von Anaphylaxiegiften in vitro wandten wir, um den physiologisch chemischen Prozessen der parenteralen Verdauung möglichst konform zu arbeiten, das spezifische Serum von den injizierten Tieren frisch entnommen an. Wir glauben durch diese Anordnung dem natürlichen Geschehen am nächsten gekommen zu sein. Bei Verwendung von frischem Meerschweinchenkomplement zum sensibilisierten Eiweiß schafft man zweifellos bis zu einem gewissen Grade den natürlichen Verhältnissen nicht ganz entsprechende Versuchsbedingungen. —

Bekanntlich wurde von Abderhalden die sogenannte optische Methode zum Studium von Fermentwirkungen in die biologische Methodik eingeführt und zwar, soweit Eiweißbausteine zu derartigen Versuchen herangezogen werden, mit außerordentlichem Erfolg. Ich erinnere daran, daß Serum eines mit Eiereiweiß behandelten Hundes wasserlösliches Glyzyltyrosin in seine Komponenten, in Glykokoll und das schwerlösliche Tyrosin zerlegt. Dies ist das sehr einfache Beispiel einer Präzipitation, aus dem sich erkennen läßt, daß hochwertige verdauende Eiweißantisera zugleich auch präzipitierend wirken können. Demgegenüber muß man sich natürlich vergegenwärtigen, daß bei Präzipitation mit spezifischen Seren sowohl das Antigen als auch der Antikörper an der Bildung des Reaktionsproduktes mit beteiligt ist. Ob übrigens der Beweis für Identität oder Verschiedenheit von Präzipitinen und anderen Antikörpern, z. B. anaphylaktisierenden und cytolysierenden, ohne die Methoden der organischen Chemie direkt zu führen ist, scheint mir mindestens zweifelhaft zu sein.

Was die jüngst aufgefundenen Polarisationsergebnisse anbetrifft, so glaube ich nunmehr ein Urteil darüber abgeben zu dürfen; denn ich bin so ziemlich von Anfang an bei den Versuchen mitbeteiligt gewesen und habe auch später in Erlangen mittels des ausgezeichneten Dreifelderapparates unseres Institutes noch weitere Erfahrungen sammeln können.

Es zeigte sich schon bei den ersten Untersuchungen, daß die mit dem Polarisationsapparate nachzuweisenden eiweißabbauenden Fermente nicht spezifisch sind, sondern nur im allgemeinen Proteinsubstanzen verdauen. Ein lehrreicher Verdauungsversuch in dieser Beziehung ist ein von Abderhalden und Pinkussohn beschriebener: Eiweiß und Antieiweißserum liefern Peptone, welche durch die Dialysiermembran gehen. Es ist dann im Dialysat positive Biuretreaktion nachweisbar. Diese eiweißverdauenden Fermente allgemeiner Natur sind freilich nicht mit den spezifischen Cytolysinen, die für Immunitätsvorgänge in Betracht kommen, zu verquicken.

In unseren Versuchen an mit Seidenpepton immunisierten Hunden konnte von Abderhalden und mir Vermehrung der eiweißverdauenden Fermente mittels des Polarisationsapparates nachgewiesen werden. Spezifische Antikörper wurden nicht gefunden. Ich glaube, daß wir von Herrn Doerr in dieser Beziehung nicht ganz richtig verstanden worden sind.

Was anaphylaktische Tiere anlangt, so ist ja von vornherein gar nicht zu erwarten, daß die Stärke der anaphylaktischen Erscheinungen mit den Ausschlägen im Polarisationsapparate parallel geht. Abderhalden und Pinkussohn konnten auch bei anaphylaktischen Anfällen mittels des Polarisationsapparates positive Befunde nicht erheben; geht doch der anaphylaktische Prozeß an den lebenswichtigen Zellen vor sich, woselbst, wie ich im Centralblatt für die gesamte Stoffwechselphysiologie ausgeführt habe [1]), das Freiwerden von Stoffen mit Volumenenergie aus dem parenteral eingeführten kolloidalen Eiweiß zu heftigen Störungen führen muß. Ich befinde mich mit dieser Anschauung in erfreulicher Uebereinstimmung mit Sleeswijk.

Wenn also die Polarisation gerade auf dem Anaphylaxiegebiete zu ausschlaggebenden Resultaten nicht geführt hat, so gelang es mir doch, mich ihrer nach anderer Richtung hin mit Vorteil zu bedienen, nämlich beim Studium der Bakterienfermente. Diese Fermentwirkung und ihre Beziehungen zum Wachstum der Parasiten einerseits und der Saprophyten andererseits konnte in bestimmten Nährböden mittels des Polarisationsapparates sehr genau verfolgt, kurvenmäßig festgelegt und der Einfluß bestimmter Stoffe auf das Wachstum aufgefunden werden. Am befriedigendsten fallen natürlich die Resultate dann aus, wenn chemisch definierte Gruppen eingeführt werden können. Auf Einzelheiten dieser Untersuchungen hier einzugehen verbietet leider Zeitmangel, ich verweise daher auf meine diesbezügliche Veröffentlichung im Zentralbl. f. die gesamte Stoffwechselphysiologie Jg. 1910.

Was die Antigen- und Antikörpergegenwirkungen anlangt, so bin ich bekanntlich schon seit Jahren bemüht gewesen, hierfür einen neuen Ausdruck durch sichtbare Erscheinungen dieses Geschehens außerhalb

[1]) Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffwechsels, 1909, No. 15.



des Tierkörpers zu finden. Namentlich die Beeinflussung der wenig deletären, physiologisch aber so außerordentlich wichtigen Eiweißabspaltungsantigene durch ihre Antikörper ließen eine gewisse Unabhängigkeit von Tierexperimenten als außerordentlich erwünscht erscheinen. Schon vor zwei Jahren habe ich an dieser Stelle, wie sie sich erinnern werden, eine bis dahin unbekannte Oberflächenreaktion der Antigene und Antikörper demonstriert. Es konnte gezeigt werden, daß beim Zusammenbringen der allerverschiedensten Antigene und Antikörper in bestimmten Verdünnungen Diffusionsbeschleunigung, also Aenderung des osmotischen Druckes den ohne Zusatz spezifischer Stoffe ausgeführten Kontrollversuchen gegenüber eintritt. Ich konnte diese Erscheinung zeigen mittels Kapillaren, mit der chemischen Wage und in einem besonders ad hoc konstruiertem Apparate, der es sogar gestattet, die Bildung dieser leichter diosmierenden Substanzen in ihrem ganzen Verlaufe zu verfolgen.[1])

Während der letzten Wochen ist nun diese von mir längst beschriebene und demonstrierte Reaktion unter einem neuen Namen, unter dem Namen „Meiostagminreaktion" plötzlich wieder aufgetaucht. M. Ascoli, der diesen Namen einführen will, scheint also der Meinung zu sein, er habe eine neue Reaktion aufgefunden. Dieser Ansicht kann ich mich nicht anschließen; denn jedem Fachmann ist es ohne weiteres einleuchtend, daß eine Veränderung in den Diffusionserscheinungen auf eine Aenderung des osmotischen Druckes zurückgeführt werden muß. Dabei ändert sich natürlich auch die Oberflächenspannung des Systemes. Es beruht also eine Aenderung der Oberflächenspannung und eine Aenderung der Diffusion auf ein und derselben Ursache, nämlich auf einer Veränderung des osmotischen Druckes. Wenn sich also Ascoli einer der vielen Nachweismöglichkeiten dieser Erscheinung bei seinen Versuchen bedient, so bestätigt er meine Auffindung. Immerhin sind die Bemühungen des italienischen Forschers verdienstvoll, lenkt er doch die allgemeine Aufmerksamkeit wiederum auf diese m. E. wichtige Reaktion.

Der neue Name „Meiostagminreaktion", zumal er nur eine einzige Nachweismöglichkeit der Erscheinung trifft, stiftet jedoch nur Verwirrung. Sollte es durchaus wünschenswert erscheinen, über unsere Reaktion, die in Hinblick auf die Vorgänge im lebenden Organismus mit dem Namen Diffusionsbeschleunigung sicherlich am besten getroffen wird, einen besonderen Ausdruck für die Antigen-Antikörperwirkung in vitro einzuführen, so schlage ich den Namen Epiphaninreaktion vor. Epiphaneia heißt: die Oberfläche. Dieser Name trifft alle Nachweismöglichkeiten.

Ich habe bei der Weiterausbildung und Vertiefung meiner Methodik aufgefunden[2]), daß die Oberflächenreaktion beim Zusammenbringen von

---

[1]) Zentralbl. f. Bakter. Bd. 42, Beiheft, p. 148. Uebrigens geht aus einer neuerlichen Veröffentlichung von R. Kraus in Heft 1 d. 6. Bandes der Zeitschr. f. Immunitätsf. S. 17 hervor, daß inzwischen auch dieser Autor bei gleicher Versuchsanordnung mit dem Weichardtschen Diffusiometer positive Erfolge erzielte, d. h. also Diffusionsänderungen zwischen Antigen und antikörperhaltigen Flüssigkeiten Kontrollversuchen gegenüber feststellen und so diese Auffindung bestätigen konnte.

[2]) Demonstrationsvortrag am 19. Febr. 1909 in der Physiolog. Gesellschaft zu Berlin s. Med. Klinik, 1909, No. 12; ferner auch Jahresber. über die Ergebnisse d. Immunitätsforschung b. Ferd. Enke, Stuttgart, Bd. III u. IV.



Antigen- und antikörperhaltigen Flüssigkeiten in bestimmten Verdünnungen besonders deutlich demonstriert werden kann, wenn man ein in der Oberflächenbildung begriffenes zweites System mit einführt. Es wird dann sogar der Umschlagspunkt eines zugesetzten Indikators gegenüber Kontrollflüssigkeiten verschoben.

Ich habe Ihnen dort eine Reihe derartiger Reaktionen, die allerdings nur mittels einer außerordentlich exakt dosierenden Ueberlaufpipette zu erzielen sind, aufgestellt. Es ist bei einer jeden Reaktion die genaue Versuchsanordnung aufgezeichnet.

Da, wie Sie dort sehen, diese Antigen-Antikörperwirkung in vitro schon zu so auffälligen Veränderungen führen kann, wie zur Verschiebung des Phenolphthaleinpunktes, so werden mächtige Störungen im lebenden Organismus wie die anaphylaktischen u. U. sicherlich auch durch derartige Prozesse herbeigeführt, da diese ja in den Zellen millionenfach vor sich gehen.

Auch gewisse Vorgänge der Antianaphylaxie scheinen mir anzuklingen an die Eigentümlichkeiten des Verlaufes unserer Versuche, daß nämlich eine Reaktion nicht eintritt, wenn sich das Reaktionsoptimum der beteiligten Antigene und Antikörper verschiebt.

III. Friedberger, E. (Berlin).

Ueber Anaphylatoxin und primäre Antiserumanaphylaxie.

Die von mir begründete Auffassung der Eiweißanaphylaxie als Eiweißantieiweißreaktion in vivo, eine Theorie, der sich, wie Sie soeben gehört haben, auch die beiden Referenten in ihren umfassenden Referaten angeschlossen haben, führte mich mit notwendiger Konsequenz dazu, die dem Vitrophänomen eigentümliche Komplementbeteiligung auch für das homologe Phänomen in vivo, das ist eben die „Anaphylaxie", anzunehmen. Ein Komplementschwund im Organismus beim Zusammentreffen von Eiweiß und Antieiweiß ist schon seit den Untersuchungen von Moreschi, Michaelis und Fleischmann bekannt und speziell bei der Anaphylaxie auch von Sleeswijk beobachtet worden. Aber dieser Autor erkannte noch nicht die Bedeutung der Komplementfixation für die Anaphylaxie, was einwandfrei aus seinen Worten hervorgeht, „daß die Vergiftungserscheinungen nicht die Folge des Anaphylaxieverlustes sind".

Die essentielle Rolle des Komplementes wurde erst durch die Untersuchungen festgestellt, die ich in Gemeinschaft mit Hartoch unternommen habe.

Den widersprechenden Befunden von Tsuru kann wegen der gänzlich unzulänglichen und zum Teil fehlerhaften Versuchsanordnung keine ernste Bedeutung zugesprochen werden. Das hebt auch neuerdings Sleeswijk hervor, der sich im übrigen jetzt bezüglich der Rolle des Komplements meiner Auffassung anschließt.

Nachdem ich festgestellt hatte, daß bei der Anaphylaxie im Orga-



nismus Eiweiß, Antieiweiß und Komplement zusammentreten, lag es nahe, die 3 Komponenten auch im Reagenzglas aufeinander einwirken zu lassen. Derartige Versuche führten mich zur Auffindung des in meiner dritten und vierten Mitteilung beschriebenen „Anaphylatoxins".

Läßt man auf Eiweiß-Antieiweißverbindungen [Präzipitate], deren Anaphylaxie auslösende Wirkung im Organismus Doerr und Ruß gezeigt haben, im Reagenzglas normales Meerschweinchenserum eine Zeitlang einwirken, so hat dieses nach dem Abzentrifugieren die Eigenschaft gewonnen, Meerschweinchen unter den Symptomen akuter Anaphylaxie in wenigen Minuten zu töten.

Daß das Anaphylatoxin seine Entstehung aus der Muttersubstanz, dem Präzipitat, gerade dem Komplementsgehalt des normalen Meerschweinchenserums verdankt, ergibt sich aus der Tatsache, daß durch inaktiviertes Serum ebensowenig als durch physiologische Kochsalzlösung ein Gift in Freiheit gesetzt wird. Das Anaphylatoxin wirkt bei geeigneter Darstellung akut tödlich, und die Symptome sind absolut identisch mit denen, wie wir sie bei der aktiven und passiven Anaphylaxie zu sehen gewohnt sind. Kein erfahrener Beobachter vermag hier im Symptomenbild eine Differenz wahrzunehmen.

Durch Variierung der drei bei der Giftbildung in Betracht kommenden Komponenten und der Zeit der gegenseitigen Einwirkung haben wir nun das Optimum für die Ausbeute an Anaphylatoxin zu ermitteln gesucht. Dabei haben sich komplizierte quantitative Verhältnisse ergeben, die aber ein Analogon finden in der quantitativen Beziehung bei anderen Immunitätsreaktionen und bei Kolloidreaktionen im allgemeinen. Auf nebenstehenden Tabellen finden Sie diese Versuche zusammengestellt.

In Tabelle I (siehe S. 42) sehen Sie die Resultate, wie sie bei Variierung der Antigenmengen und Anwendung gleicher Mengen der übrigen Komponenten gewonnen wurden. Sie sehen bei Verwendung von Hammelserum und Hammelblutschatten keineswegs bei den hohen Dosen des Antigens die optimale Giftbildung, sondern gerade bei den mittleren Mengen. Nur bei Verwendung der Blutkörperchen als Antigen ist von diesen Verhältnissen nichts zu beobachten. Das spricht wohl im Sinne von Kraus dafür, daß auch dem Hämoglobin in den Versuchen Friedemanns eine gewisse giftige Wirkung zukommt. Gleichviel wäre Kraus wohl nicht zu einer Ablehnung der Blutkörperchenanaphylaxie gekommen, wenn er Kontrollversuche mit Schatten angestellt hätte.

Bei Variierung der Antiserumdosis (Tabelle II, siehe S. 43) sehen wir ganz dieselben quantitativen Verhältnisse und auch wiederum das abweichende Verhalten der Blutkörperchen.

Bei Variierung der Zeit (Tabelle III, siehe S. 44) sehen wir, daß die Giftabspaltung unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen für Präzipitate und beladenen Schatten länger dauert; nur bei den Blutkörperchen tritt abweichend wiederum eine sehr schnelle Giftbildung ein.

Bei zu langem Kontakt des Komplements mit der Antigenantikörperverbindung nimmt die Giftigkeit des Abgusses wieder ab. Ob das auf einen weiteren Abbau des Anaphylatoxins durch das Komplement und die Ueberführung in ungiftige Modifikation zurückzuführen ist, oder auf eine allmähliche sekundäre Zerstörung des Giftes, mag dahin gestellt bleiben.



Tabelle I.

Variierung des Antigens.

Hammelserum 1,0 ccm in Verdünnung	vom Kaninchen, Präzip. Serum	Komplement (Meerschw.-Serum)	Resultat 1	Resultat 2
1:0	2 ccm	4 ccm [1]	leichte Anaphylaxie	gesund
1:1	„ „	„ „	Anaphylaxie	Anaphylaxie
1:10	„ „	„ „	tot	tot
1:100	„ „	„ „	„	tot
1:1000	„ „	„ „	leichte Anaphylaxie	—
1:10 000	„ „	„ „	—	—
1:100 000	„ „	„ „	gesund	—

Schatten v. Hammelblut	vom Kaninchen, Hämolyt. Serum	Komplement	Resultat 1	Resultat 2
8 ccm	1 ccm	3 ccm	—	gesund
5 „	„ „	„ „	gesund	—
3 „	„ „	„ „	tot	tot
1 „	„ „	„ „	gesund	„
1,0 „	„ „	„ „	—	gesund

Blutkörper (Hammel)	Hämol. Serum (Kaninchen)	Komplement	Resultat 1	Resultat 2
10 ccm	1 ccm	3 ccm	tot	—
5 „	„ „	„ „	„	—
2 „	„ „	„ „	„	tot
1 „	„ „	„ „	„	„
0,1 „	„ „	„ „	gesund	gesund

Bei Variierung der Menge des Komplements sehen wir in der Regel die Giftigkeit proportional der Komplementmenge gehen.

Es sei noch bemerkt, daß die Antigen-Antikörperverbindungen, die beim erstmaligen Kontakt mit Komplement keine Giftabspaltung zeigten, stark toxische Abgüsse lieferten, wenn sie zum zweiten Male mit Komplementserum digeriert wurden.

Die Anaphylatoxinbildung in vitro hat zum ersten Male einwandfrei gezeigt, daß die Giftbildung auch ohne eine Intervention des Organismus erfolgen kann, also ohne eine Beteiligung der Zellen. Nun habe ich früher selbst den sessilen Rezeptoren eine wesentliche Bedeutung für das Zustandekommen der Anaphylaxie zugeschrieben. Diese sessilen Rezeptoren waren ja hypothetisch auch seit langem zur Erklärung der Toxinüberempfindlichkeit allgemein angenommen worden. Unsere zahlreichen Versuche, sie direkt nachzuweisen, sind allerdings durchgehend negativ ausgefallen.

[1]) Davon 3,0 injiziert.

Tabelle II.

Variierung des Antikörpers.

Präzip. Serum	Hammelserum	Komplement	Resultat 1	Resultat 2
4	1 ccm	4 ccm	gesund	gesund
2	„ „	„ „	tot	—
1	„ „	„ „	—	Anaphylaxie
0,8	„ „	„ „	„	gesund
0,5	„ „	„ „	gesund	—

Hämol. Serum	Schatten v. Hammelblut	Komplement	Resultat 1	Resultat 2
3	3 ccm	3 ccm	—	gesund
2	„ „	„ „	gesund	—
1	„ „	„ „	Anaphylaxie	tot
0,5	„ „	„ „	gesund	—
0,1	„ „	„ „	—	gesund

Hämol. Serum	Blutkörper (Hammelblut)	Komplement	Resultat 1	Resultat 2
10	1 ccm	3 ccm	—	tot
5	„ „	„ „	tot	„
1	„ „	„ „	„	„
0,1	„ „	„ „	Anaphylaxie	leicht. Anaphyl.
0,05	„ „	„ „	—	gesund

Es gelang nicht, durch Mischung von Zellen, mit dem homologen Antigen eine Komplementablenkung zu erzielen. Auch wurde das Anaphylaktogen durch diese Zellen nicht entgiftet. Ebensowenig gelang es mir, mit den Zellen präparierter Tiere normale Meerschweinchen passiv zu präparieren, obwohl das Serum genügende Antikörpermengen dazu besaß.

Die Frage, ob nicht doch sessile Rezeptoren existieren und bei der aktiven Anaphylaxie eine gewisse Rolle spielen, möchte ich offen lassen. Aber neben meinen Anaphylatoxinversuchen lassen auch andere Versuche, deren Ergebnisse ich bereits am 4. März in der „Berliner Physiologischen Gesellschaft" vorgetragen habe (Medizinische Klinik 1910, No. 13) die hypothetische Annahme sessiler Rezeptoren zur Erklärung der Anaphylaxie unnötig erscheinen.

In diesen Versuchen, durch die die Anaphylaxie zum ersten Male einwandfrei als ein humoraler Vorgang sich erweist, konnte ich zeigen, daß die Ueberempfindlichkeit in letzter Linie nur auf der primären Giftigkeit von Antiseris beruht.

Derartige Antisera vom Kaninchen vermögen primär nach geeigneter Vorbehandlung, zur geeigneten Zeit entnommen, sogar bei normalen Meerschweinchen Anaphylaxie auszulösen, wie das bei präparierten

Tabelle III.

Variierung der Zeit.

Präzip. Serum	Hammelblut	Komplement	Zeit d. Kontaktes	Resultat
2 ccm	1 ccm	3 ccm	10 Minuten	gesund
„ „	„ „	„ „	45 „	„
„ „	„ „	„ „	6 Stunden	„
„ „	„ „	„ „	1 Tag	Anaphylaxie
„ „	„ „	„ „	2 Tage	tot
„ „	„ „	„ „	3 „	„
„ „	„ „	„ „	6 „	Anaphylaxie

Hämol. Serum	Schatten v. Hammelblut	Komplement	Zeit d. Kontaktes	Resultat
1 ccm	3 ccm	3 ccm	10 Minuten	gesund
„ „	„ „	„ „	6 Stunden	„
„ „	„ „	„ „	12 „	„
„ „	„ „	„ „	35 „	tot
„ „	„ „	„ „	3 Tage	Anaphylaxie
„ „	„ „	„ „	3 „	leicht. Anaphyl.
„ „	„ „	„ „	6 „	gesund

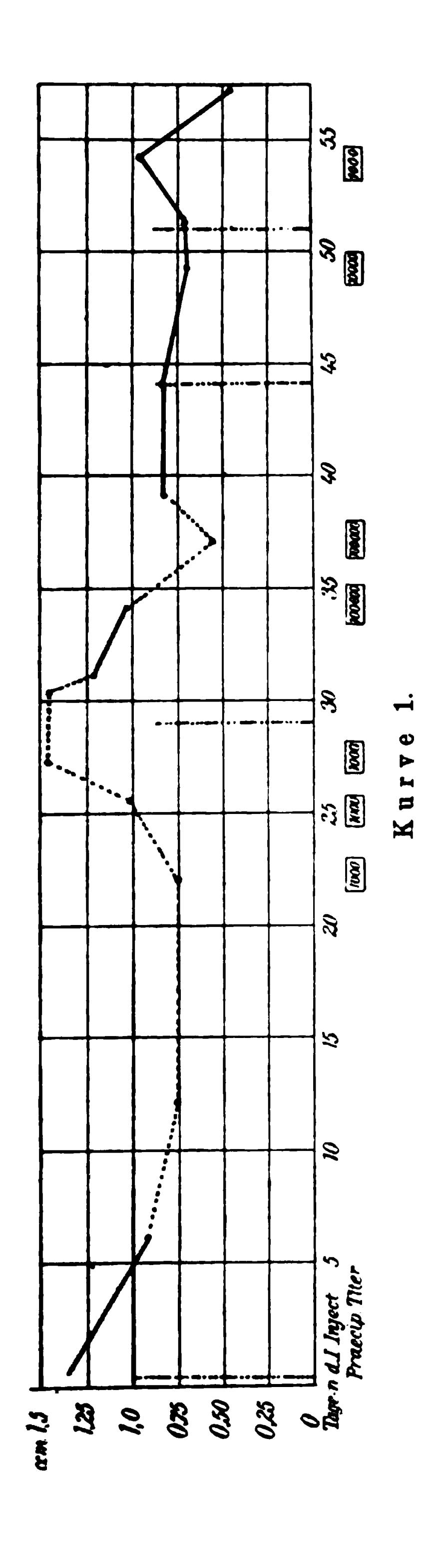
Hämol. Serum	Blutkörperchen (Hammelblut)	Komplement	Zeit d. Kontaktes	Resultat
1 ccm	1 ccm	3 ccm	10 Minuten	tot
„ „	„ „	„ „	6 Stunden	„
„ „	„ „	„ „	1 Tag	„
„ „	„ „	„ „	2 Tage	„
„ „	„ „	„ „	2 „	„
„ „	„ „	„ „	6 „	leichte Anaphyl.

Tieren Pick und Yamanouchi zuerst gesehen haben. Wir haben bei einer Reihe von normalen Kaninchen die Giftigkeit des Serums für Meerschweinchen bei intravenöser Applikation bestimmt. Die Kaninchen wurden dann mit verschiedenem Antigen behandelt und die Giftigkeit ihres Serums wieder an Meerschweinchen ausgewertet. Dabei zeigen die normalen Meerschweinchen nach intravenöser Injektion kleiner Mengen des Antikaninchenserums die für Anaphylaxie absolut typischen Symptome. Auch der Temperatursturz, die Komplementverarmung, die Verzögerung der Blutgerinnung und die Leukopenie fehlen nicht.

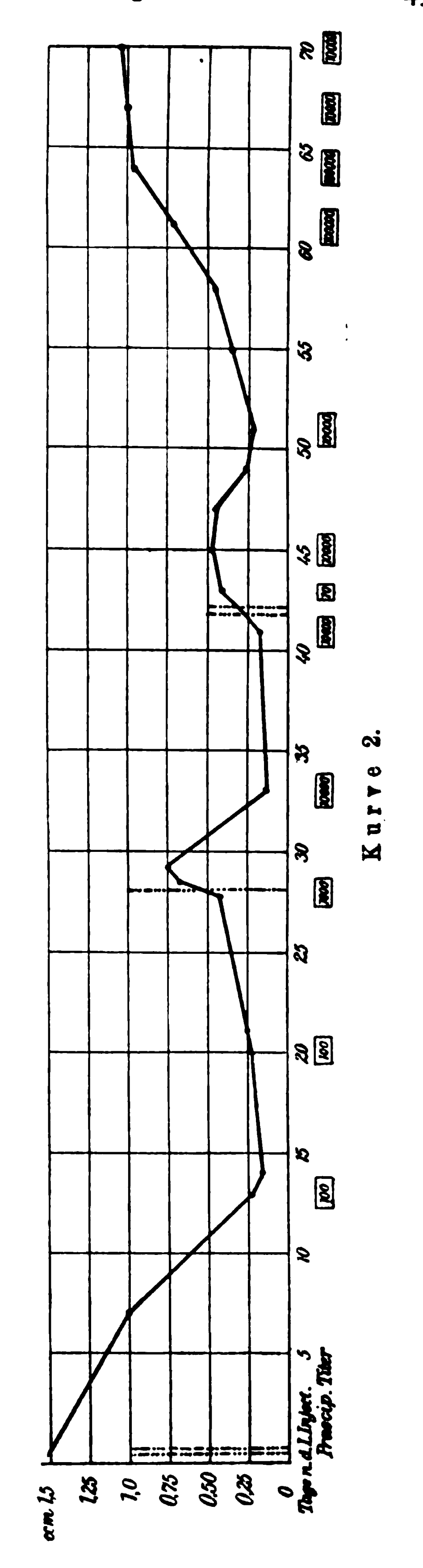
Die Resultate derartiger Versuche finden sie hier auf den Kurven (siehe S. 45, 46, 47 u. 48).

Auf der Abszisse sind die Tage vom Tag der ersten Vorbehandlung an verzeichnet, auf der Ordinate die Volumina vom Serum der Kaninchen, die pro 100 g Meerschweinchen tödlich wirken. Die Zahlen geben zu-



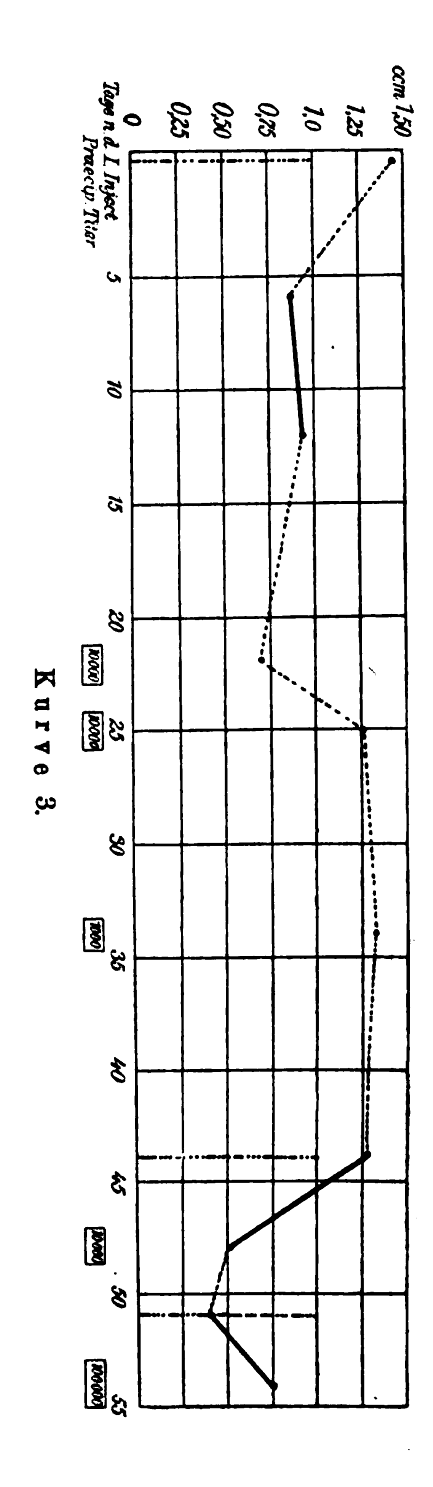


Kurve 1.

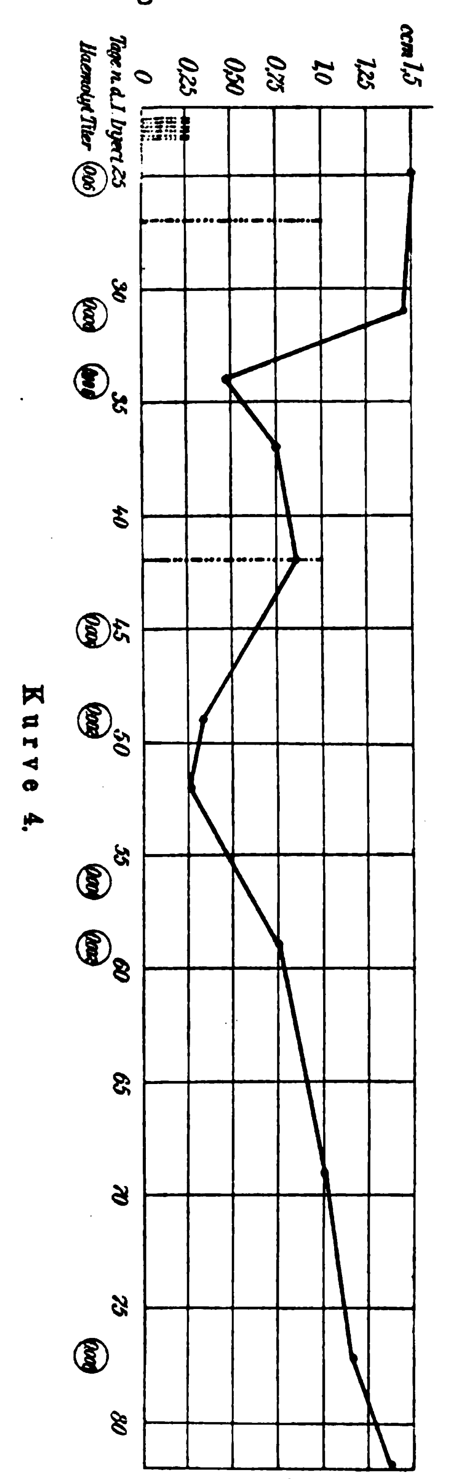


Kurve 2.

gleich die Antigendosen in ccm an, die in den Kurven durch vertikale Striche dargestellt sind. Wir sehen aus diesen Kurven, daß sowohl nach



Kurve 3.

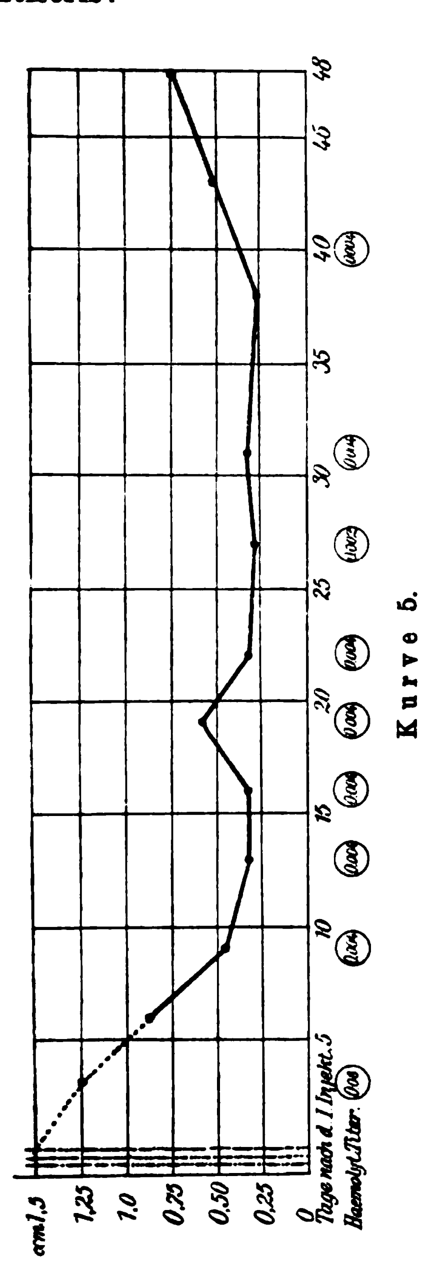


Kurve 4.

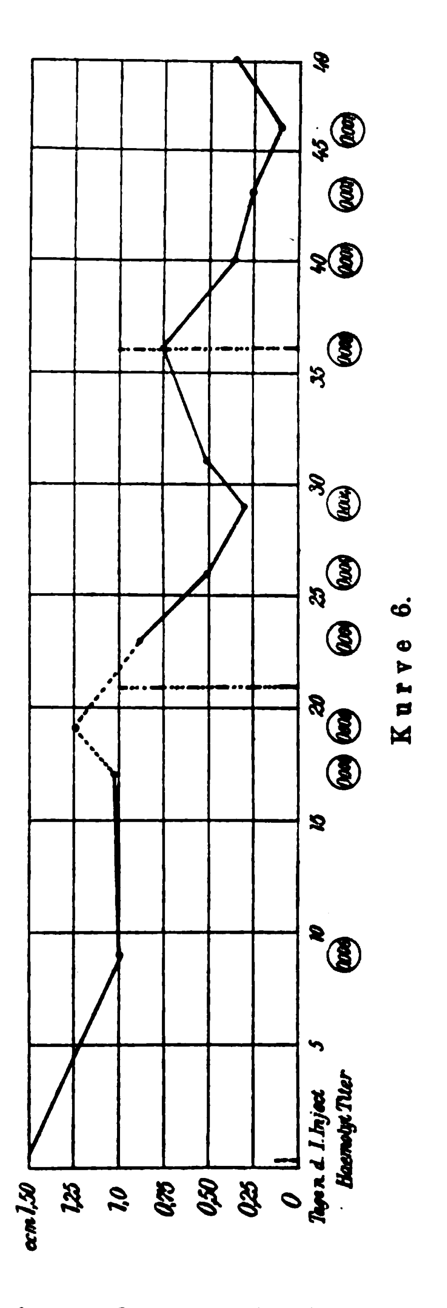
Zufuhr von Hammelserum als auch Hammelblut, und wie ich ergänzend bemerken will, auch von Bakterien die Toxizität der Sera eine bedeutende Zunahme bis fast um das Zehnfache erfährt. Dann geht

allmählich die Giftigkeit zurück, erleidet aber bei jeder neuen Antigenzufuhr eine erneute Steigerung.

Worauf beruht nun diese merkwürdige primäre Giftigkeit von Antiseris?



Kurve 5.



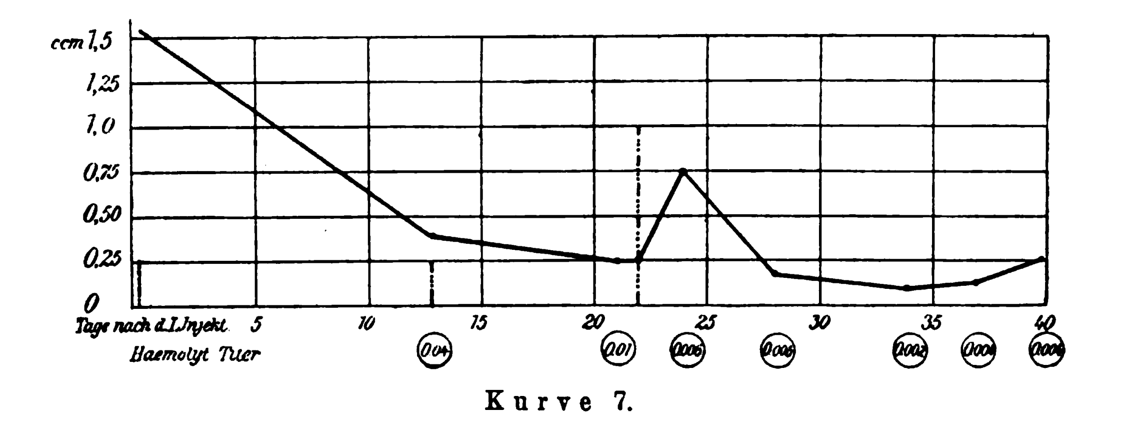
Kurve 6.

Belfanti und Carbone haben bereits vor langer Zeit die toxische Wirkung der Sera von mit Blut behandelten Tieren beschrieben, doch lag hier ein Hämolysin vor, welches gegen die Blutkörper der Tierspezies gerichtet war, bei denen die toxische Wirkung erprobt wurde. Hier ist der schädigende Einfluß der Antiseris ohne weiteres verständlich. In unseren Versuchen handelte es sich aber um Injektion eines gegen Hammel gerichteten Antiserums beim Meerschweinchen.

Oder vielleicht ist auch hier ein Uebergriff der Antikörperreaktion von einer Spezies auf die andere verantwortlich zu machen? (Hartoch, Doerr und Moldovan). Dagegen spricht zunächst die große Distanz im System zwischen Hammel und Meerschweinchen, dann finden wir auch kein Uebergreifen der Reaktion in vitro.

Die Antihammeleiweißsera zeigten, sofern die Reaktion mit den nötigen Kautelen angestellt wurden, keine Reaktion mit Meerschweincheneiweiß in vitro, ebensowenig die hämolytischen Sera Lyse gegenüber Meerschweinchenblut.

Aber wenn man trotzdem hiernach an ein Uebergreifen bei der vielleicht empfindlicheren Reaktion in vivo denken wollte, so spricht doch mit absoluter Sicherheit gegen diese Annahme die gleichzeitig von uns beobachtete Giftigkeit von Antityphusseris. Ein Uebergreifen der Reaktion von gegen das Eiweiß des Typhusbazillus gerichteten



Kurve 7.

Antiseris auf das Eiweiß des Meerschweinchens wird man wohl schlechterdings ausschließen können. Weiter spricht gegen die Annahme einer „Gruppenreaktion" die Tatsache, daß die Giftigkeit vom Antikörpergehalt innerhalb weitester Grenzen unabhängig ist.

Bei Kurve 1 haben wir z. B. am 14. Tag die maximale Giftigkeit bei einem Präzipitationswert von 1—100, am 30. Tage die gleiche Giftigkeit bei einem 100fach größeren Präzipitingehalt des Serums. Und am 64. Tage bei einem 1000fach höheren Präzipitingehalt als am 14. Tag eine annähernd 10mal größere Giftigkeit.

Auch die hämolytischen Sera zeigen die gleichen Verhältnisse, wie sich aus den Kurven unschwer erkennen läßt.

Worauf beruht nun aber die Giftigkeit unserer Sera?

Wie wir sofort zeigen werden, ist die Toxizität dieser Sera auf ihren gleichzeitigen Gehalt an Antikörper und Antigenresten zurückzuführen.

Diese beiden Komponenten existieren offenbar im Organismus des Wirtstieres friedlich nebeneinander, ohne energisch unter Giftbildung miteinander reagieren zu können.

Wird aber einem solchen Tier von neuem Antigen zugeführt, so sind zwei Möglichkeiten vorhanden:

1. Die Antigenmenge ist genügend groß, um mit dem zirkulierenden Antikörper ausgiebig in Reaktion treten zu können, so daß eine tödliche Dosis Anaphylatoxin gebildet wird, dann tritt der Tod des Versuchstieres ein, eine Versuchsanordnung, die man seither als „aktive Anaphylaxie" bezeichnete.

2. Die neu zugeführte Antigenmenge liegt unter derjenigen, die zusammen mit dem Antikörper die Erzeugung einer tödlichen Anaphylatoxinmenge bedingt. Dann findet nur eine partielle Absättigung der Antikörper statt, und es entsteht der Zustand, den man mit dem Namen „Antianaphylaxie" belegt hat. (Ich betrachte also, wie Ihnen bereits aus meiner ersten Arbeit bekannt ist, die Antianaphylaxie als eine „Anaphylaxie refracta dosi", nur ist nicht mehr unbedingt die Annahme notwendig, daß die partiell abgesättigten Rezeptoren an den Zellen lokalisiert sind.)

Wird das Antigen-Antikörperhaltige Serum eines Wirtstieres einem Normaltier eingeführt, so sind wiederum je nach der Dosis zwei Möglichkeiten vorhanden.

1. Die Dosis ist genügend groß, dann geht das Tier, wie in allen jenen Fällen, aus denen unsere Kurven zusammengesetzt sind, akut unter dem Bilde des anaphylaktischen Shocks zugrunde.

Es ist das die von uns studierte neue Form der Anaphylaxie, die wir kurz als „primäre Antiserumanaphylaxie" bezeichnen.

2. Die passiv übertragene Dosis liegt unterhalb der tödlichen; dann enthält das Serum wohl in der Regel genügend Antikörper, aber nicht mehr genügend Antigenreste, und es ist eine erneute Antigenzufuhr notwendig, um den Tod herbeizuführen. Es ist das die Versuchsanordnung, die unter dem Namen „passive Anaphylaxie" geht.

Nach alledem müssen wir die primäre Giftigkeit, beruhend auf Antikörper und Antigenresten eines derartigen Serums als wesentliches Moment bei der Anaphylaxie ansehen.

Das, was man bisher als aktive und passive Anaphylaxie bezeichnet, sind nur durch die quantitativen Verhältnisse bedingte besondere Versuchsanordnungen.

Als Beweis dafür, daß die Antiserumanaphylaxie tatsächlich auf den Gehalt an Antigen- und Antikörper zurückzuführen ist, spricht vor allem der Charakter der Kurven, aus denen die Beziehungen der Giftigkeit zum Antigen deutlich hervorgehen.

Wir sehen z. B. in Kurve 1, wie in gewissen Grenzen abhängig von der Antigenzufuhr die Giftigkeit zunimmt, und nun unabhängig von dem Antikörperwert wieder zurückgeht in dem Maße, als der Einfluß der Antigenzufuhr verschwindet. Eine erneute Antigenzufuhr erneuert die schon im Schwinden begriffene Giftigkeit nach einer kurz dauernden negativen Phase. Ebenso ist das Verhalten bei den hämolytischen Seris.

Die hohe Bedeutung, die neben dem Antigenrest dem Antikörper zukommt, ergibt sich aus der Tatsache, daß die Ausfällung eines hämolytischen Antiserums mit dem homologen Antigen in vitro diesem seine Giftigkeit



völlig raubt. Daß es sich dabei um einen spezifischen Vorgang und nicht um eine Adsorption handelt, folgert daraus, daß nur den homologen Blutkörperchen die beschriebene Wirkung zukommt.

Entsprechend dem Ergebnis des Vitroversuches sind auch Mischungen des giftigen Antiserums mit entsprechenden Antigenmengen bei intravenöser Injektion ungiftig, sofern nicht ein Ueberschuß des giftigen Serums zugesetzt ist. Auch vorherige intravenöse Antigenzufuhr vermag die toxische Wirkung des Antiserums bis zu einem gewissen Grade zu paralysieren. Aber auch dieser Effekt wird nur gegenüber einem geringen Multiplum der tödlichen Dosis erreicht.

Diese Versuche sind dazu geeignet, scheinbare Widersprüche in der Anaphylaxieliteratur vollkommen zu klären. Doerr und Ruß gaben an, daß die passive Anaphylaxie bei vorheriger Injektion des Antigens nicht auszulösen ist. Hallé und Lamaire, Pirquet und andere kamen zu dem entgegengesetzten Resultat. Sicher sind beide Arten von Beobachtungen richtig. Die Widersprüche sind nur dadurch bedingt, daß die Autoren in Unkenntnis der primären Giftigkeit des Antiserums die quantitativen Verhältnisse nicht genügend berücksichtigt haben. In den Versuchen von Doerr und Ruß war offenbar die Antiserumdose zu gering, um den partiell entgiftenden Einfluß der vorherigen Antigenzufuhr zu paralysieren, während die anderen Autoren wohl genügende Dosen von Antiserum reinjizierten, um auch unter diesen ungünstigen Bedingungen die Anaphylaxie glatt auszulösen.

Die Mischung zweier giftiger Antisera beeinflußt nicht die Giftigkeit. Es tritt also nicht etwa der Antigenrest des einen Serums, mit dem Antikörper des anderen und umgekehrt in eine Reaktion ein, die zu einer mehr oder weniger vollständigen Entgiftung führt.

Eine analoge Giftigkeit, wie das mit Hammelantigen behandelte Kaninchen gegenüber dem Meerschweinchen, zeigt das mit Hammelantigen behandelte Huhn gegenüber der Taube.

Die Toxizität des giftigen Kaninchenserums für die artgleiche Spezies ist im Vergleich zu der für Meerschweinchen ungemein gering. Das hängt offenbar zum Teil mit der geringen Empfänglichkeit des Kaninchens gegenüber dem Anaphylatoxin zusammen, doch wirkt auch Anti-Hammel-Meerschweinchenserum nur in geringem Grade auf das Meerschweinchen.

Die Toxizität von Kaninchenantiseris ist für mit Hammelserum präparierte Meerschweinchen keine höhere, als für normale Tiere.

Die Zellen (Milz, Gehirn, Blutkörperchen) der Kaninchen, deren Serum giftig wirkt, hat keine entsprechende Wirkung auf normale Meerschweinchen.

Die von uns studierte Serumgiftigkeit ist wohl nicht ohne praktisches Interesse. Einmal lehren uns diese Versuche, daß bei Antiseris, die zu Heilzwecken benutzt werden, die Zeit der Entnahme keineswegs indifferent sein kann. Man wird, um die häufig in der Praxis beobachtete primäre toxische Wirkung derartiger Antisera zu verhüten, in Zukunft bei der Entnahme der Sera nicht nur auf den Antikörpergehalt achten müssen, sondern auch darauf, die Sera in einer Zeit zu entnehmen, in der sie nicht mehr toxisch im Uebertragungsversuch wirken

Wenn Sie nun noch einmal die Kurven in ihrer Gesamtzahl über-



blicken, so sehen Sie, daß zeitlich die maximale Giftigkeit in auffälliger Weise mit den zeitlichen Verhältnissen übereinstimmt, wie sie von Pirquet für die Serumkrankheiten des Menschen ermittelt sind. Wir sehen, daß die maximale Giftigkeit etwa am 12. Tage nach der ersten Antigenzufuhr zu konstatieren ist, zu einer Zeit, in der auch die Serumkrankheiten in der Regel ihren Höhepunkt erreicht. Wir sehen dann, wie in unseren Kurven bei der weiteren Injektion das Intervall bis zur höchsten Toxizität immer kürzer wird, was ja gleichfalls in Analogie steht mit der beschleunigten Reaktion von Pirquet. Es läßt sich das ja hier nicht genügend feststellen, aber wir gehen vielleicht nicht fehl mit der Annahme, daß auch die Kaninchen zu jener Zeit, in der ihr Serum die höchste Giftigkeit erreicht, gleichfalls gewisse Alterationen des Befindens zeigen.

Interessant scheint es mir zu sein, daß unsere Kurven vollkommen parallel laufen mit den Feststellungen von Weil-Hallé und Lamaire bezüglich der Fähigkeit des Antieiweiß-Kaninchenserums Meerschweine zur passiven Anaphylaxie zu präparieren.

Die Autoren haben gefunden, daß die Uebertragungsfähigkeit am besten etwa nach 14 Tagen gelingt und bis zum 60. Tage allmählich abnimmt, genau wie die primäre Toxizität. Nachdem wir auf Grund unserer Versuche die passive Anaphylaxie ja nur als eine besondere Versuchsanordnung der primären Serumgiftigkeit ansehen müssen, ist dieses Verhalten ohne weiteres verständlich.

Das Verschwinden des Antigens am 60. Tag erklärt auch, weshalb die Tiere, deren Serum nicht mehr passiv überträgt, doch noch jahrelang aktiv anaphylaktisch bleiben. Es ist das darauf zurückzuführen, daß zwar die Antigenreste und damit eine der Bedingungen für die primäre Giftigkeit sowie für die passive Uebertragung verschwunden sind, nicht aber die einmal entwickelten Antikörper, die bei erneuter Antigenzufuhr immer wieder die Bildung des Anaphylatoxins (aktive Anaphylaxie) im Organismus des Wirtstieres selbst ermöglichen.

IV. G. Lockemann und J. Thies (Berlin):

Ueber Anaphylaxie durch fötales Serum.

(Vorgetragen von J. Thies).

Pathologische Zustände während der Schwangerschaft veranlaßten uns, dem Einfluß des fötalen Serums auf den mütterlichen Organismus nachzugehen. Da diese Versuche sich am Menschen nicht durchführen ließen, wurde von uns zum Tierversuch gegriffen. Die dauernde gegenseitige Einwirkung von Fötus und Mutter während der ganzen Gravidität bewogen uns dazu, den Einfluß wiederholter Injektionen zu prüfen.

Die Versuche wurden so angestellt, daß frisch gewonnenes fötales Kanichenserum erwachsenen Kaninchen intravenös injiziert wurde, meistens 2 ccm. Nach 8 Tagen, in manchen Fällen auch später wurde die Injektion



wiederholt. Bei diesen Versuchen zeigt es sich nun, daß durch Injektion von fötalem Serum schwere Schädigungen, die als anaphylaktische Symptome aufgefaßt werden müssen, hervorgerufen wurden. Ausführlicher sind diese Versuche veröffentlicht in der Biochem. Zeitschr. Bd. 25, 1910 2. und 3. Heft, Seite 120. Zur Orientierung soll hier kurz das Ergebnis der Versuche angeführt werden. Die Resultate sehen Sie hier in Tabelle 1—3. In der ersten Tabelle sehen Sie die Zusammenfassung der gesamten Versuchsergebnisse. Von den 94 einmal oder wiederholt gespritzten Tieren reagierten im ganzen 71 Proz. positiv, und zwar von 68 nichtträchtigen Tieren zeigten 48 eine positive Reaktion gleich 68 Proz., von 26 trächtigen Tieren reagierten 21 positiv gleich 81 Proz. Von den 15 wiederholt gespritzten zeigten alle eine positive Reaktion. Wenn schon aus dieser Tabelle hervorgeht, daß der Körper des Kaninchens durch die erste Injektion weniger widerstandsfähig gegen die zweite gleichgroße Serumdosis wird, daß also eine Sensibilisation eintritt, so läßt sich diese Erscheinung noch deutlicher aus Tabelle 2 und 3 erkennen. In der Tabelle 2 sieht man die Wirkung der ersten Injektion. Auf diese reagierten nur 30 Tiere = 32 Proz. positiv, und zwar von den 68 Nichtträchtigen 19 Tiere = 28 Proz. und von 26 Trächtigen 11 Tiere = 43 Proz.

Aus der Tabelle 3 läßt sich die Wirkung der zweiten oder wiederholten Injektion ersehen, von den 72 Tieren reagierten wiederum positiv 64 Proz. und zwar von den 57 Nichtträchtigen 31 Tiere = 56 Proz. und den 15 Trächtigen alle = 100 Proz. Aus dem Vergleich der Tabelle 2 und 3 muß auf eine Sensibilisation durch die erste Injektion geschlossen werden. Da trächtige Tiere aber in recht häufigen Fällen dieselbe Empfindlichkeit auf die erste Injektion zeigen, wie nichtträchtige nach der zweiten Injektion, so kann man annehmen, daß die Trächtigkeit an sich die Tiere gegen das arteigene Serum anaphylaktisch gemacht hat.

Als Symptome der Anaphylaxie zeigten sich Unruhe, beschleunigte Atmung, Lichtscheu, Mattigkeit, andauernder Nießreiz, andauernde Kaubewegungen, Sträuben der Haare, ferner Schwäche der Extremitäten und vollständige Lähmung derselben; dabei besteht unwillkürlich Entleerung von Urin und Kot, und ferner zeigen sich als schwerere Symptome tonische und klonische Krämpfe und Exitus.

Pathologische Veränderungen fanden sich vornehmlich in den drüsigen Organen: Blutungen in der Thymus, der Leber, auf den serösen Häuten; nach wiederholten Injektionen in der Leber aseptische Nekrosen, vielfach den ebenfalls veränderten Pfortaderästen benachbart. Wahrscheinlich sind die Nekrosen die primäre Veränderung.

Vermutlich sind auch beim Menschen analoge Unterschiede zwischen dem mütterlichen und kindlichen Serum vorhanden. Die dauernde Wechselwirkung zwischen dem fötalen und mütterlichen Kreislauf eröffnet eine Perspektive für die Aetiologie der Schwangerschaftsveränderungen des mütterlichen Körpers und der Erkrankungen in der Schwangerschaft. Der Gedanke liegt nahe, die Schwangerschaftstoxikosen namentlich die Eklampsie auf das Eindringen von unveränderten kindlichen Eiweißstoffen in den mütterlichen Organismus zurückzuführen. Die Stellung der Eklampsie außerhalb des Rahmens aller bisher bekannten Erkrankungen läßt auch auf eine besondere Ursache der Erkrankung schließen. Es ist aber die Schwangerschaft die gegebene Gelegenheit, wo unveränderte Eiweiß-



stoffe eines anderen Organismus (des Fötus) parenteral in den Kreislauf der Mutter gelangen können. Die aus den besprochenen Tierversuchen gezogenen Schlüsse auf den Menschen zu übertragen, ist deswegen gestattet, weil sich klinische Analogien verschiedenster Art zeigen, die direkt auf die Frage hinweisen, ob nicht der Symptomenkomplex der Eklampsie eine Schädigung des mütterlichen Organismus durch das anders zusammengesetzte kindliche Eiweiß bedeutet. Die kindlichen Eiweißstoffe gelangen durch Diffusion oder durch pathologische Veränderungen der Plazenta, so durch lokale Läsionen oder Anomalien der Plazenta (Infarkte, Hämatome) oder durch abnorme Fermenttätigkeit in dem epithelialen Ueberzug in den mütterlichen Organismus. Es entstehen im mütterlichen Körper Antistoffe, deren Bindung mit dem Antigen (dem Eiweiß) zu den Erscheinungen der Anaphylaxie führen kann.

Klinische Analogien zwischen den bis jetzt bekannten Symptomen der Anaphylaxie und der Eklampsie finden sich mehrfach. Die Hauterscheinungen, Hautjucken, Erytheme, Urtikaria, Hämorrhagien der Haut. Ferner nervöse Erscheinungen, wie Erbrechen, Zuckungen einzelner Muskelgruppen oder auch ganzer Extremitäten, Parästhesien, das Gefühl von Taubheit einzelner Finger oder Extremitäten, dann namentlich die klonischen, tonischen Krämpfe, die mit vorübergehender oder dauernder Bewußtlosigkeit einhergehen und zum Exitus führen können. Ferner das plötzliche Auftreten von Albuminurie, die oft nach dem Partus rasch verschwindet, namentlich der rasche Wechsel in dem Harnbefund spricht auch für eine plötzlich auftretende und verschwindende Ursache. Die Form der Fieberkurven weist ebenfalls auf eine Ursache hin, die mit der Entbindung in Zusammenhang steht, da Temperatursteigerungen sich in der Regel erst nach der Entbindung einzustellen pflegen. Jedenfalls sprechen die Temperatursteigerungen gegen eine Intoxikation mit den kindlichen Stoffwechselprodukten. Subnormale Temperaturen finden sich seltener, doch werden sie bei schweren Fällen beobachtet. Namentlich die Wochenbettseklampsien finden durch anaphylaktische Verhältnisse eine Erklärung insofern, als man annehmen kann, daß durch den Zerfall von kindlichen Blutkörperchen, die während der Schwangerschaft oder der Geburt in den mütterlichen Kreislauf übergetreten sind, im Wochenbett die anaphylaktische Reaktion ausgelöst wird. Des weiteren sprechen die plötzlichen Todesfälle während der Schwangerschaft oder im Beginn des ersten eklamptischen Anfalls, ohne daß pathologische Veränderungen eine Erklärung für die Todesursache geben, für ähnliche Ursachen. Vor allem aber der Vergleich der pathologischen Veränderungen bei Eklampsie und Anaphylaxie, indem sich bei den Sektionen im wesentlichen degenerative Veränderungen der parenchymatösen Organe in beiden Fällen finden.

Diese klinischen Analogien berechtigen demnach wohl den Symptomkomplex der Eklampsie dem der Anaphylaxie zuzurechnen.

V. Hailer (Groß-Lichterfelde):

Versuche zur praktischen Verwertbarkeit der Anaphylaxiereaktion.

Seit längerer Zeit sind im Kaiserlichen Gesundheitsamt auf Veranlassung von Uhlenhuth Untersuchungen der im Handel vorkommenden Nährpräparate auf ihre chemische Zusammensetzung hin im Gang. Sie sind geboten durch die Rolle, die diese Mittel in der Kranken- und Rekonvaleszentenbehandlung spielen und sie sind durch die bekannte Puroaffäre besonders aktuell geworden. Die Ergebnisse werden demnächst ausführlich veröffentlicht werden.

Ich kann daraus kurz mitteilen, daß nur wenige dieser Nähr- und Kräftigungsmittel in ihrer Zusammensetzung dem entsprechen, was die öffentliche Ankündigung von ihnen verspricht, daß sie selten native Proteine, meist nur abgebautes Eiweiß, Albumosen, Peptone und Amidosäuren enthalten.

Für die Herkunftsbestimmung solcher kein natives Eiweiß enthaltender Mittel versagt natürlich die sonst so ausgezeichnete biologische Eiweißdifferenzierung mittels der Präzipitation und auch die Methode der Komplementbindung. Unter diesen Umständen richtete sich der Blick hoffnungsvoll auf die Ueberempfindlichkeitsreaktion, deren mehr oder minder große Brauchbarkeit für eine Reihe praktischer und forensischer Zwecke von Uhlenhuth und Haendel, H. Pfeiffer, Thomsen, Sleeswjik, Mießner u. a. erwiesen ist.

Die Frage war also: ist es möglich vermittels der Ueberempfindlichkeitsreaktion festzustellen, welche Fleischart der zur Herstellung des Nährpräparats verwendet wurde, ob den Angaben der Firma entsprechend nur Rinder- bzw. Hühnerfleisch oder ob nicht dabei etwa auch Pferde-, Schweine- Hammelfleisch oder gar Hunde- und Rattenfleisch mit unterliefen.

Der Gedanke, die Ueberempfindlichkeitsreaktion zur Ermittlung der Herkunft der Eiweißspaltprodukte zu verwenden, schien aussichtsreich, da Wells, ferner Pick und Yamanouchi zeigten, daß sich Tiere noch mit weitgehend auf fermentativem Wege abgebautem Eiweiß sensibilisieren lassen, ganz zu schweigen von den Versuchen von Arthus, der nach Vorbehandlung mit dem einfachsten Eiweißabbauprodukt, dem Glykokoll oder der Amidoessigsäure und Nachspritzung mit Rinderserum einen typisch anaphylaktischen Zustand ausgelöst sah, was allerdings Abderhalden und Weichardt und Rosenau und Andersen bei Verwendung reiner höherer Amidosäuren nicht bestätigen konnten.

Freilich die Frage der Spezifität der eingetretenen Sensibilisierung, die Frage, reagieren die Tiere nun wirklich auch nur mit dem Eiweiß der Tierart, mit deren Eiweißspaltprodukten sie vorbehandelt sind, ist bei den erwähnten Versuchen bis jetzt recht kurz weggekommen, obschon Uhlenhuth und Haendel zeigten, daß es bei Anwendung gekochten Eiweißes leicht zu einem Uebergreifen der Reaktion kommt. Bei meiner Aufgabe war die Frage der Spezifität die wesentliche.



Hinsichtlich der Versuchsanordnung hielt ich mich an die von Uhlenhuth und Haendel erprobte Methodik: zur Vorbehandlung 3malige Injektion von 1 ccm, der je nach dem Trockengehalt des Präparats verschieden stark angesetzten Lösung des zu untersuchenden Mittels, subkutan, an aufeinanderfolgenden Tagen; eine solch reichliche Einführung des Sensibilinogens empfahl sich, da anzunehmen war, daß die Präparate meist nur wenig sensibilisierende Substanz enthalten; zur Nachspritzung: intrakardiale Einführung von meist $^1/_2$ ccm des inaktivierten Serums 4 Wochen nach der Vorbehandlung, verdünnt mit dem gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung, da bei der unter Umständen kleinen Menge sensibilisierender Substanz eine Ueberschwemmung mit großen Mengen des nativen Eiweißes zweckmäßig schien.

Ein Vorversuch mit wenigen Tieren und 3 Präparaten, nämlich: einem zähflüssigen Fleischextrakt, einem trockenpulverigen Nährmittel und einem angeblichen Fleischsaft — der Versuch ist in der Arbeit von Uhlenhuth und Haendel[1]) als vorläufiges weiterer Nachprüfung zu unterziehendes Ergebnis mitgeteilt — zeitigte ein recht ermutigendes Resultat: denn obschon die Präparate kein koagulierbares Eiweiß mehr enthielten und sich dementsprechend in ihnen durch die Präzipitation mit spezifischen Serisund die Methode der Komplementbindung kein Eiweiß mehr nachweisen ließ, vermochten sie doch Meerschweinchen stark zu sensibilisieren: bei Nachspritzung mit Rinderserum zeigten die Tiere ausgesprochene Ueberempfindlichkeit.

Als die Versuche nun in größerem Maßstab und mit zur Kontrolle selbst hergestellten Präparaten aus einwandfreiem Material wiederholt und weiter ausgebaut wurden, da ergab sich, daß ein allgemein beliebter Fleischextrakt Meerschweinchen nicht nur gegen Rindereiweiß sensibilisierte, sondern auch gegen Pferde- und Hammeleiweiß, daß sich ein von einer vertrauenswerten Firma hergestelltes Trockenpräparat ebenso verhielt und daß mit einem vielgenannten Fleischsaft vorbehandelte Tiere anaphylaktisch wurden nicht nur gegen Rinder- und Eiereiweiß, sondern auch gegen das Serum vom Pferd, Hammel, Schwein und sogar vom Kaninchen. Aehnlich verhielten sich auch die anderen Präparate.

Wie verhielten sich nun aber die Kontrollen, die ich selbst aus durchaus einwandfreiem aus Schlachtungen im Kaiserlichen Gesundheitsamt stammendem Material und unter Wahrung aller Sicherheitsmaßregeln durch Zerkochen von Fleisch im Dampf und mit 25proz. Schwefelsäure und durch peptische und tryptische Verdauung herstellte? Eine durch Dämpfen von zerhacktem Schweinefleisch hergestellte, klar filtrierte eiweißfreie Bouillon sensibilisierte Meerschweinchen gegen Schweine-, Rinder- und Hammelserum; trat auch die Ueberempfindlichkeit bei den Tieren, soweit sie reagierten, nur schwach und zum Teil erst nach einiger Zeit hervor, so war die Reaktion doch ganz ausgesprochen und nach Schweineserum nicht stärker als nach den anderen Seris.

Lösungen, die aus Rindereiweiß durch weitgehende tryptische und peptische Verdauung hergestellt waren — die angewandten Fermente stammten vom Rind — sensibilisierten Meerschweinchen stark nicht allein gegen Rinderserum sondern auch gegen Schweine-, Pferde- und Eiereiweiß.

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 4. S. 76.

Ja, als ich eine Lösung anwandte, die erhalten war durch 40 stündiges Kochen von zerhacktem Rinderfleisch mit 25 proz. Schwefelsäure, Neutralisieren mit Baryumkarbonat, Filtrieren, Einengen unter vermindertem Druck und Sterilisieren im Dampf, eine Lösung, die kein koagulables Eiweiß sondern außer geringen Mengen von Peptonen und Albumosen, nur die niederen Eiweißspaltprodukte enthielt, beobachtete ich noch starke Sensibilisierung gegen Rinder- und Pferdeserum. Bei diesen Kontrollpräparaten kamen übrigens meist nur 0,1—0,3 ccm der Eiweißlösung bei der Nachspritzung zur Verwendung.

Bei den hier angegebenen Versuchsbedingungen war demnach eine Differenzierung der Eiweißspaltprodukte nach ihrer Herkunft nicht möglich.

Man könnte gegen die Versuche einwenden, daß die intrakardiale Einverleibung von Mengen bis zu $^1/_2$ ccm Serum eine Ueberschwemmung des Organismus mit toxischen Substanzen bedinge, deren Folgen nicht klar abzusehen seien, und daß eventuell eindeutige Resultate zu erwarten wären, wenn man die toxischen Dosen abstufte. Man könnte von der Eiweißart, deren Spaltprodukte mit Sicherheit in dem zu untersuchenden Präparat zu erwarten sind die minimalste toxische Dose feststellen und dann versuchen, ob mit der gleichen Dosis von anderen Tierseris anaphylaktische Symptome zu erzielen sind. Für die Untersuchung von Gemischen von Eiweißspaltprodukten verschiedener Tierarten wäre aber auch diese Methode aus naheliegenden Gründen nicht anwendbar.

Um diesem Einwand, daß bei der Prüfung mit zu massigen Eiweißdosen gearbeitet sei und die quantitativen Unterschiede in der Reaktion auf die toxischen Substanzen zu wenig beachtet seien, zu begegnen, wurde nach Vorbehandlung mit durch Rinderpankreas zersetztem Schweineeiweiß die minimalste toxische Dose an Schweineserum bestimmt, die noch deutliche Ueberempfindlichkeit bewirkte. Es ergab sich, daß die Grenze bei $^1/_{10}$ ccm lag, bei $^1/_{20}$ ccm aber die Erscheinungen schon zweifelhaft waren. In dieser erprobten Dosis von $^1/_{10}$ ccm wurde nun gleich vorbehandelten Meerschweinchen Pferde- und Kaninchenserum und Eiereiweiß intrakardial injiziert mit dem Erfolg, daß die Erscheinungen in nichts hinter den vom Schweineserum hervorgerufenen zurückblieben.

Die erwähnten Versuche ergeben demnach eine deutliche Sensibilisierung der Meerschweinchen durch Eiweißspaltungsprodukte; die Sensibilisierung war aber unter den angewandten Versuchsbedingungen nicht spezifisch gegen die Eiweißart, von der die Spaltprodukte stammten und auch durch die Anwendung quantitativ abgestufter Eiweißmengen bei der Nachspritzung der Tiere war eine Differenzierung der Spaltprodukte nach ihrer Herkunft nicht möglich.

Nach dem Ergebnis dieser Versuche entfiel die Möglichkeit, durch die angewandte Methode der Ueberempfindlichkeitsreaktion die Art der für die Nährpräparate verwandten Materialien festzustellen, wenn dies nicht durch Präzipitation mit spezifischen Seris möglich war.



VI. Haendel u. Steffenhagen (Groß-Lichterfelde):

Auswertung von Anti-Eiweiß-Seris.

Gelegentlich vergleichender Untersuchungen über den Nachweis intravenös zugeführten artfremden Eiweißes in der Blutbahn des Kaninchens mittels der Präzipitation der Komplementbindung und der Anaphylaxiereaktion hatten wir die Beobachtung gemacht, daß 3 uns zur Verfügung stehende empfindliche hochwertige präzipitierende Pferdeantisera, welche nach der Uhlenhuthschen Methode ausgewertet einen Titer von 1:20000 besaßen gegenüber ihrer präzipitierenden Wirkung eine so auffallend geringe komplementbindende Kraft entfalteten, daß in dem speziellen Falle der Nachweis des in Frage kommenden Eiweißes nicht durchgeführt werden konnte, während dasselbe mit der Präzipitation durch das gleiche Antiserum noch bis zum 12. Tage festzustellen war.[1]) Nun ist es ja bekannt und speziell auch von Sachs ist in seinen ausgezeichneten Monographien darauf hingewiesen worden, daß Komplementbindung und Präzipitation 2 Methoden darstellen, welche auf verschiedenen Grundlagen beruhen. Die erwähnte Erscheinung, daß die bei ihrer Anwendung erhaltenen Ergebnisse untereinander differierten, hätte sonach an sich nichts besonders Auffallendes, wenn nicht nach den in der Literatur hierüber vorliegenden Mitteilungen im allgemeinen die Auffassung vorherrschte, daß die Komplementbindungsmethode gegenüber der Präzipitation die weitgehenderen Ausschläge gäbe, daß ihr Bereich der größere sei und entsprechend demnach auch da wo eine Präzipitinreaktion stattfindet, Komplementbindung eintritt.

Zur Feststellung, ob es sich bei der erwähnten Beobachtung um eine zufällige und vereinzelte Erscheinung gehandelt hat, oder ob derartige Fälle auch sonst vorkommen können, haben wir eine Anzahl verschiedener Antieiweißsera, wie sie im Kaiserl. Gesundheitsamt zu Abgabezwecken vorrätig gehalten werden, systematisch ausgewertet hinsichtlich ihrer komplementbindenden, ihrer präzipitierenden und einzelne auch hinsichtlich ihrer anaphylaktisierenden Eigenschaften, sowie bei einigen auch ihre Präzipitationsstärke nach Nuttall bestimmt. Im ganzen haben wir 17 Sera zu diesen Untersuchungen herangezogen, die Mehrzahl hatte nach der Uhlenhuthschen Methode einen Titer 1 : 10000 bzw. 1 : 20000, je eins einen Titer von 1 : 40000 bzw. 1 : 50000 und nur eins den geringen Titer 1 : 1000. Die Sera waren von Kaninchen durch zweimalige intravenöse und ein- bis zweimalige intraperitoneale Injektion von Serum gewonnen, durch Berkefeldfilter filtriert und in zugeschmolzenen Glasröhrchen 3—8 Wochen aufbewahrt. Was die von uns für die Komplementbindung angewandte Technik anbelangt, so benutzen wir gegen Hammelblut gerichtetes inaktiviertes Kaninchenserum, Hammelblut in 5 Proz. Aufschwemmung und frisches Meerschweinchenserum als Komplement.

[1]) Hintze, Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie. Bd. 6. Heft 1.



Komplement und Ambozeptor wurden für jeden Versuch frisch eingestellt. Diese schon ursprünglich von Neisser und Sachs sowie auch von Rieckmann und Bauer geforderte Maßnahme ist zur Gewinnung exakter Resultate durchaus notwendig, da die Komplementwirkung verschiedener frischer Meerschweinchensera doch recht beträchtliche Schwankungen zeigt. So sahen wir z. B., daß ein Meerschweinchenserum in der Dosis von 0,1 ccm erst mit 0,005 Ambozepter 1 ccm einer 5 Proz. Hammelblutaufschwemmung völlig komplett löste, während ein anderes Meerschweinchenserum bereits mit 0,001 ccm desselben Amboceptors komplette Lysis bewirkte. Es empfiehlt sich nun nicht, wenn ein schwach wirksames Komplement eine größere Ambozeptordosis zur kompletten Lysis bedarf, diese schematisch zu verdoppeln, da dann die Ambozeptormenge trotz des schwach wirksamen Komplementes zu sehr gesteigert wird und die Blutkörperchen zu stark sensibilisiert werden. Man erhält sicherere Resultate, wenn in diesem Falle entweder die kleinste gefundene Ambozeptormenge angewendet wird oder sie höchstens um einen Bruchteil vermehrt wird. Von einer Auswertung des Komplements der jeweils festgestellten Ambozeptormenge gegenüber und der Anwendung des doppelten Multiplums der gefundenen Komplementdosis haben wir in der Regel abgesehen, da wir möglichst ohne Komplementüberschuß arbeiten wollten, um auf diese Weise die kräftigsten Ausschläge zu erhalten. Man wird vielleicht vorteilhaft auch bei der praktischen Anwendung der Methode von der besonderen Einstellung des Komplements überhaupt absehen können, sofern man die gegen 0,1 Komplement gefundene Ambozeptordosis nicht zu sehr steigert. Im allgemeinen wird man schließlich doch fast regelmäßig zu einer Benutzung von 0,1 Komplement kommen.

Verschiedene Reihen haben wir sowohl ohne Komplement wie auch ohne Ambozeptorüberschuß angesetzt, ohne dadurch aber zu wesentlich anderen Ergebnissen, wie bei unserer gewöhnlichen Versuchsanordnung, zu gelangen. Im übrigen gingen wir zunächst in der Weise vor, daß wir nach der von Neisser und Sachs, Rieckmann und Bauer gegebenen Anweisung abgestufte Mengen des Antiserums meist von 0,1 ccm, bei manchen Seris von 0,2 ccm an gegen 0,0001 cm Antigen auswerteten, um die kleinste Antiserummenge zu finden, welche mit dieser Antigendosis komplette Hemmung der Hämolyse bewirkte. Wie wir gleich hier vorausschickend bemerken wollen, hat keines der von uns untersuchten Antisera in irgendeiner Dosis mit dieser Antigenmenge eine komplette Hemmung der Hämolyse bewirkt. Sondern die erhaltenen optimalen Ausschläge schwankten in diesen Reihen gegen 0,0001 Antigen zwischen starker und schwacher Lysis. Die Antisera entfalteten die beste Wirkung meist in Dosen zwischen 0,04 und 0,02, mitunter waren aber auch größere Antiserummengen erforderlich. Im allgemeinen wurden bei dieser Prüfung die deutlicheren Ausschläge von den auch hinsichtlich ihrer präzipitierenden Fähigkeit wirksameren Seris erhalten; es war aber nicht bei allen Seris ein derartiges Parallelgehen ihrer Wirkungen zu erkennen.

Die für die erwähnte Antigenmenge (0,0001 ccm) gefundene optimale Antiserumdosis wurde nun einfach oder nach dem Vorgehen von Rieckmann verdoppelt gegen fallende Antigenkonzentrationen ausgewertet. Bei verschiedenen Seris erhielten wir dabei regelmäßige Reihen und



zwar ganz entsprechend dem Fallen der Antigenmengen abnehmende Komplementbindung. Bei einzelnen Seris sahen wir aber auch gerade umgekehrt' gegenüber den stärkeren Antigenkonzentrationen nur schwache oder gar keine antihämolytische Wirkung, sondern die Komplementbindung nur auf ganz bestimmte der gewählten Antiserumdosis offenbar optimal entsprechende kleinere Antigenmengen beschränkt. Daß der Ausfall des Komplementbindungphänomens in außerordentlicher Weise von dem jeweiligen Verhältnis von Antigen und Antiserum abhängt, ist bekannt. Bei unseren weiteren Versuchen haben wir daher diesem Umstand Rechnung tragend die Sera nicht mehr nach dem Vorgehen von Rieckmann gegen 0,0001 Antigen, sondern von vornherein in mehreren Parallelreichen — gegen verschiedene Antimengen wie z. B. 0,01, 0,001, 0,0002, 0,0001 ccm ausgewertet. Es zeigte sich dabei, daß meist bei demselben Antiserum ganz andere Mengen jeweils mit den verschiedenen Antigenkonzentrationen die stärkste Komplementbindung bewirkten. Häufig aber nicht regelmäßig war das Verhältnis dabei so, daß 0,01 ccm Antigen gegenüber eine größere Antiserumdosis erforderlich war als den geringeren Antigenmengen 0,001, 0,0002 und 0,0001 gegenüber, aber auch bei diesen waren die wirksamen Antiserumdosen oft verschieden. Bei einzelnen Seris waren die Differenzen beträchtlich, bei anderen zwar geringer aber doch deutlich in Erscheinung tretend.

Auch bei dieser Versuchanordnung haben die benutzten Sera keine starke komplementbindende Kraft entfaltet. Nur ein Teil der Sera bewirkte mit 0,001 ccm Antigen komplette Hemmung der Hämolyse, bei den anderen war selbst mit dieser Antigendosis keine völlige sondern nur eine mehr oder minder stark ausgesprochene Hemmung der Hämolyse eingetreten. Natürlich waren und zwar fast bei allen Seris auch mit geringeren Antigenmengen wie 0,001 ccm noch spezifische Ausschläge zu verzeichnen, die aber nie so stark waren, daß die Hämolyse vollständig gehindert gewesen wäre.

Zunächst mag es vielleicht auffällig erscheinen, daß eine so große Anzahl von hochwertigen präzipitierenden Seris nur eine verhältnismäßig geringe komplementfixierende Wirkung entfaltete. Man kann aber auch bei anderen Immunseris ähnliche Beobachtungen machen, wenn sie vielleicht auch nicht in einen direkten Vergleich mit den vorgetragenen zu setzen sind. Es ist uns jedenfalls bei Durchsicht einer größeren Anzahl von Protokollen von Komplementbindungsversuchen, welche der eine von uns früher mit Cholera und Choleraseris angestellt hatte, aufgefallen, daß auch hier bei Verwendung hochwertiger bakterizider Sera mit einem Titer 1:25000 und 1:30000 diesem gegenüber die mit der Komplementbindung erhaltenen Werte beträchtlich oft um das Zehnfache oder noch mehr zurückblieben. Worauf es beruhen könnte, daß die präzipitierenden und komplementbindenden Wirkungen der verschiedenen Sera so sehr differieren, vermögen wir nicht zu sagen. Wir hatten daran gedacht, daß die Filtration der Sera vielleicht die Ursache sein könnte. Nachdem aber Andrejew kürzlich gezeigt hat, daß bei der Filtration die Präzipitine stärker absorbiert werden wie die komplementbindenden Antikörper, so kann der Grund für das differente Verhalten wohl doch nicht in der Filtration gesucht werden.

Die erhaltenen Ergebnisse scheinen uns nun nach verschiedener Richtung hin Schlüsse zuzulassen. Einmal geht daraus hervor, daß es



sich bei der ursprünglichen, eingangs erwähnten Beobachtung, wonach hochwertige präzipitierende Sera nur geringe komplementbindende Wirkung entfalten können, nicht etwa nur um eine vereinzelte oder seltene Erscheinung gehandelt hat, sondern, daß solche Sera anscheinend sogar verhältnismäßig häufig vorkommen, häufiger jedenfalls als man wohl bisher anzunehmen geneigt war.

Es soll nun andererseits aber nicht etwa behauptet werden, daß nicht auch Antisera vorkommen, welche im Vergleich zu ihrer präzipitierenden Wirkung eine stärkere komplementbindende Kraft entfalten können. Man darf aber diese Eigenschaft nicht ohne weiteres bei jedem präzipitierenden Serum voraussetzen.

Es können daher zu Untersuchungen mittels der Komplementbindung namentlich für praktische, besonders für forensiche Zwecke entsprechend der auch von Sachs bereits aufgestellten Forderung nur solche Sera Verwendung finden, die speziell auf ihre komplementbindenden Eigenschaften genau ausgewertet sind und sich bei dieser Prüfung auch entsprechend wirksam gezeigt haben. Eine weitere Frage ist die, ob es sich nicht empfiehlt bei diesen Komplementbindungsversuchen der Abhängigkeit der Komplementbindung von dem jeweiligen Verhältnis von Antigen und Antiserum doch mehr Berücksichtigung zu schenken. Wir möchten glauben, daß es vielleicht vorteilhafter wäre in einem praktischen Falle die zu untersuchende Eiweißlösung nicht mit einer Antiserumdosis zu prüfen, welche gegen eine in gewisser Hinsicht immerhin willkührlich gewählte Antigenmenge eingestellt ist, sondern unter Benutzung der von Uhlenhuth empfohlenen Salpetersäurekochprobe den Eiweißgehalt der fraglichen Lösung möglichst zu bestimmen und einzustellen, um die Prüfung mittels der Komplementbindung auch mit einer ihrem Eiweißgehalt entsprechenden Antiserumdosis vornehmen zu können. Die praktischen Untersuchungen mögen vielleicht bereits in der Weise durchgeführt werden, in der Literatur liegt aber bisher unseres Wissens eine nähere Angabe in dieser Hinsicht nicht vor.

Was die Auswertung der Sera nach der Methode von Nuttal anbelangt, so ergab sich, daß die für die einzelnen Sera festgestellte Präzipitationsstärke, die Größe des bei bestimmten Antigen-Antiserumverbindungen entstehenden Niederschlags nicht, jedenfalls nicht in gesetzmäßiger Weise in Beziehungen zu bringen ist mit der komplementbindenden Wirkung und der groben oder feineren Empfindlichkeit der Sera bei der Präzipitation.

Zum Vergleich haben wir schließlich dann noch einzelne Seris auch hinsichtlich ihrer anaphylaktisierenden Wirkung nach zweierlei Richtungen hin an Meerschweinchen ausgewertet. Einmal indem wir nach dem Vorgange von Doerr und Ruß eine Doppelserie von Meerschweinchen mit gleichen Antiserummengen von je 0,1 ccm Antiserum i. p. vorbehandelten und nach 24 Stunden mit fallenden Antigenmengen prüften und zweitens ebenfalls Doppelreihen von Meerschweinchen nach Doerr und Moldavan mit fallenden Dosen von Immunserum (von 0,3 ccm an) vorbehandelten und nach 24 Stunden mit 0,2 ccm Antigen nachspritzten. Zu den letzten Versuchsreihen hatten wir in vitro Kontrollreihen mit denselben Immunserum-Antigenmengen angesetzt zur Bestimmung der noch sichtbar im

Reagenzglase eintretenden Präzipitinreaktion. Wir konnten nun in der Tat wie Doerr und Moldavan bei dieser Versuchsanordnung eine zwar weitgehende aber keine völlige Uebereinstimmung hinsichtlich der im Reagenzglase und im Tierkörper wirksamen Immunserumdosen feststellen. Auch erhielten wir keine so glatten Versuchsreihen wie diese Autoren. Regelmäßigen Tod der Tiere erzielten wir nur mit der Antiserumdosis 0,3 ccm. Ferner traten mitunter bei den mit schwächeren Antiserumdosen vorbehandelten Tieren bei der Prüfung schwerere Symptome auf als bei den mit größeren Antiserummengen sensibilisierten Meerschweinchen. Die Individualität der einzelnen Tiere machte sich auch bei diesen Versuchen bemerkbar. Die niederste anaphylaktisierende Dosis lag bei allen untersuchten Seris zwischen 0,03 und 0,01. Sie fiel, wie erwähnt, nicht immer mit der kleinsten im Reagenzglase noch wirksamen Immunserummenge zusammen, so gab z. B. das empfindlichste präzipitierende Serum (Titer 1:50000) im Reagenzglase mit 0,003 noch ein nach Nuttall meßbares Präzipitat, während im Tierkörper nur 0,01 ccm noch anaphylaxieauslösend wirkte; ein anderes Serum dagegen machte mit 0,03 die Meerschweinchen noch anaphylaktisch, rief aber im Reagenzglase keine Trübung mehr hervor.

Bei der anderen Art der Auswertung, Vorbehandlung mit 0,1 ccm Antiserum und Nachbehandlung mit fallenden Mengen Antigens traten die Differenzen bezüglich der anaphylaktisierenden Kraft bei den einzelnen Seris in schärferer Weise hervor. Im allgemeinen erwies sich diese Kraft aber bei den einzelnen Seris durchschnittlich um das 100fache geringer als ihre präzipitierende Wirkung, d. h. z. B. ein Serum, welches mit 0,1 ccm noch mit 0,0001 Antigen im Reagenzglas ein Niederschlag erzeugte, vermochte Meerschweinchen nur gegen 0,01 Antigen zu sensibilisieren. Ein Serum blieb in seiner sensibilisierenden Wirkung sogar um das 600fache zurück. Auf Grund der bei diesen Auswertungsreihen beobachteten Differenzen oder Uebereinstimmungen möchten wir jedoch bezüglich Identität bzw. Verschiedenheit der Präzipitine der anaphylaktischen und der komplementbindenden Antikörper keine besonderen Schlüsse ziehen, zumal wir erst 6 der untersuchten Sera bezüglich ihrer anaphylaktisierenden Wirkung genauer ausgewertet haben. Wenn wir mehr zu der Auffassung neigen, daß Präzipitine und anaphylaktische Antikörper verschieden sind, so liegt dies auch an einer anderen Beobachtung, auf die wir abschließend noch kurz hinweisen möchten. Bei den eingangs erwähnten Untersuchungen über den Nachweis artfremden Eiweißes speziell von Pferdeserum in der Blutbahn des Kaninchens wurde auch das Auftreten der Eiweißantikörper systematisch verfolgt. Nach den Untersuchungen von Hintze ergab sich dabei, daß der anaphylaktische Antikörper schon einige Tage vor dem Auftreten der Präzipitine im Serum der Kaninchen nachweisbar war und bis zum 16. Tage in gleicher Weise nachweisbar blieb, über einen Zeitraum also, während dessen die Präzipitine erst allmählich zur Entwicklung kamen, ihren Höhepunkt erreichten und später wieder deutlich in Rückbildung begriffen waren.

Auch unter Berücksichtigung der Antiserumanaphylaxie Friedbergers scheint uns doch dieses wechselseitige unabhängige Verhalten der beiden Antikörper auf ihre Verschiedenheit hinzuweisen.



Diskussion zu den Referaten und den Vorträgen I—VI.

Gröber (Berlin) wendet sich gegen die von Biedl und Kraus in ihrer in der Wiener klin. Wochenschr. 1910 erschienenen Arbeit gegenüber Friedberger und Hartoch ausgesprochene und von Herrn Biedl auf dem Kongreß wiederholte Behauptung, daß es nicht möglich sei, beim Kaninchen mit den üblichen Methoden echte Anaphylaxie zu erzeugen. Herr Biedl hat behauptet, die Blutdrucksenkung beim Kaninchen sei nicht spezifisch anaphylaktisch, sondern eine Folge der Respirationsstörung. Es handle sich, da die Tiere sich nicht wieder erholten, sondern eingingen, um ein prämortales Symptom. Diesen Behauptungen der Herren Biedl und Kraus gegenüber stellt Herr Gröber fest, daß Friedberger und er in gemeinsam an Kaninchen gemachten Versuchen über Anaphylaxie sehr wohl das typische Bild der anaphylaktischen Vergiftung erhalten haben, daß die Blutdrucksenkung nicht nur „prämortales“ Symptom ist. Beweis: Friedberger und Gröber sahen, daß trotz auf Respirationsstillstand (wonach künstliche Atmung eingeleitet wurde) folgender erheblicher Blutdrucksenkung um 50 Proz. und mehr bei einem Teil ihrer Versuchstiere (Kaninchen) volle Erholung eintrat. Nach dieser Erholung ließ sich trotz erneuter großer Seruminjektionen der vorher beobachtete Zustand nicht wieder hervorrufen. Schon das beweist zur Evidenz, daß es sich in diesen Fällen um typische Anaphylaxie bzw. Antianaphylaxie handelte, daß also das Kaninchen durchaus keine Ausnahmestellung einnimmt. — Die Kaninchen wurden zunächst mit 1,0 ccm Hammelserum pro kg intravenös injiziert, erhielten nach 4 Wochen die gleiche Dosis. 8 Tage nach der 2. Impfung wurde dann die Kurve aufgenommen. Weder mit Atropininjektion noch mit Vagusdurchschneidung (beides solange das Herz noch kräftig schlug) konnte ein wesentlicher Heilerfolg erzielt werden.

Herr Gröber demonstriert 11 Kurven (1 normale, 10 von anaphylaktischen Kaninchen), die sehr schön die Blutdrucksenkung sowie die charakteristischen Veränderungen der Respiration zeigen.

R. Pfeiffer (Breslau): M. H.! Gestatten Sie, daß ich einige Resultate von Untersuchungen hier mitteile, welche ich in Gemeinschaft mit Bessau über ein als antiendotoxisch bezeichnetes Typhusserum, das ich der Güte Besredkas verdanke, angestellt habe. Die höchst merkwürdigen Ergebnisse scheinen mir eine gewisse Beziehung zu dem Gegenstand unserer heutigen Tagesordnung zu besitzen. Als Gift diente in diesen Versuchen bei 58° abgetötete Typhusagarkultur, deren tödliche Dosis bei intraperitonealer Einspritzung für Meerschweinchen von 200 bis 250 g zwischen 10 und 15 mg schwankt. Das Besredka-Serum agglutiniert die betreffende Typhuskultur bis zu 1:20000, hat einen bakteriziden Titer von 0,5 mg und präzipitiert Typhusextrakte sehr stark. In der höchsten benutzten Dosis von 3 ccm vermochte es bei Mischung die 8- bis 9fache Dosis letalis der abgetöteten Typhusbazillen zu paralysieren, allerdings nicht vollständig, da die Versuchstiere in der Regel schweren Temperatursturz bekamen, von dem sie sich jedoch erholten. Das zur Kontrolle benutzte Normalpferdeserum paralysierte meinen alten Versuchen entsprechend in der Menge von 2 ccm etwa 2 letale Dosen. Ebenfalls übereinstimmend mit meinen früheren Angaben fand ich wieder, daß bakteriolytisches Kaninchenserum, welches durch einmalige Injektion kleiner Dosen abgetöteter Typhusbakterien in die Ohrvene gewonnen war, dem also nach allen Annahmen antitoxische Eigenschaften fehlten, zwar quantitativ schwächere, sonst aber völlig analoge paralysierende Wirkungen gegen das Typhusgift erkennen ließ. 2—3 ccm schützen gegen die 5—6fache Dosis letalis. Eine genauere Prüfung des Besredka-Serums ergab, daß es sich nicht um echte Antiendotoxine handeln kann. Für diese Auffassung spricht erstens die Tatsache, daß das Gesetz der Multipla für die Beziehungen des Besredka-Serums zu dem entsprechenden Bakteriengift nicht gültig ist; zweitens die von uns gefundene und zunächst paradox erscheinende Beobachtung, daß unter gewissen Umständen kleinere Quantitäten des Besredka-Serums eine bestimmte Giftdosis paralysieren, während die Tiere bei Injektion der gleichen Giftmenge mit größeren Serumquantitäten unter typischer Vergiftung zugrunde gehen können, etwas, was bei echten Antitoxinen noch nie beobachtet worden ist. Von besonderer Bedeutung ist des weiteren die Feststellung, wonach das oben geschilderte rein bakterizide Kaninchenserum sogar noch höhere scheinbar antiendotoxische Wirkungen (bis zu 12 Dosen letalis) erkennen läßt, wofern die Injektionen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen erfolgen, denen 24 Stunden vorher 3 ccm gewöhnliche Nährbouillon eingespritzt worden war zur Erzeugung einer aseptischen Entzündung. Ich füge hinzu, daß bei derartig präparierten Tieren auch die Wirkung des Besredka-Serums eine deutliche Steigerung erfährt. Die hier geschilderten Phänomene möchte ich mir zunächst so erklären, daß unter dem



Einfluß des Serums nicht eine Giftneutralisation der Ehrlichschen Auffassung entsprechend, sondern ein fermentativer Abbau des Giftmoleküls bis zu ungiftigen Produkten stattfindet, wobei außer den spezifischen Immunkörpern auch noch eine vom Organismus gelieferte Komponente, möglicherweise das Komplement sich beteiligt. Wenn bei größeren Serumdosen die antitoxische Wirkung ausbleibt, so könnte man an eine Art von Komplementablenkung denken, vielleicht bedingt durch die im Serum enthaltenen Präzipitine und deren Zusammentreffen mit den durch Bakteriolyse frei werdenden Bakterienprodukten. Für diese Erklärung spricht, daß es unter gewissen Versuchsbedingungen gelingt, die scheinbar antitoxische Kraft des Besredka-Serums zu verringern oder ganz aufzuheben durch das Hinzufügen anderer präzipitierender Systeme (Menschenserum + Menschenantiserum). Die erhöhte antitoxische Wirkung des bakteriziden Kaninchenserums in der entzündeten Bauchhöhle würde auf den vermehrten Komplementgehalt der Exsudatflüssigkeit und stärkeren Zustrom des Komplements zu beziehen sein. Kontrollversuche haben uns ergeben, daß die Leukocyten hierbei höchstens eine untergeordnete Rolle spielen. Wir sehen also hier einen neuen Beweis für die teleologische Bedeutung der Entzündung; wir halten es für eine fundamentale Tatsache, daß auch bisher als rein bakterizid betrachtete Sera unterstützt durch die Entzündungsreaktion des Organismus imstande sind, die erheblichsten giftzerstörenden Wirkungen auszuüben, womit die Einwände gegen deren Benutzung im infizierten Tierkörper hinfällig werden. Das Fehlen echter Antitoxine im Besredka-Typhusserum wird weiterhin erhärtet durch die Feststellung, daß die Entgiftung nur bei Injektion von Mischungen zustande kommt, bei getrennter Applikation aber so gut wie ganz ausbleibt. Der Heileffekt ist bei schon bestehenden Vergiftungen gleich Null zu setzen. Auch bei Infektionen mit lebenden Bazillen ist mit dem Besredka-Serum nicht mehr zu erreichen, als mit dem bakteriziden Kaninchenserum.

H. Sachs (Frankfurt a. M.) berichtet über Versuche, die Herr Dr. Ritz ausgeführt hat, und die ergeben haben, daß Mäuse bei intravenöser Reinjektion nach einmaliger Vorbehandlung anaphylaktisch reagieren. Die Reaktion ist von optimalen Mengenverhältnissen abhängig. Zu bemerken ist, daß Mäuse zwar hämolytische Ambozeptoren bilden, aber nicht Komplemente für hämolytische Ambozeptoren in nachweisbarer Form enthalten.

Zu dem Vortrag von Haendel und Steffenhagen wird bemerkt, daß sich daraus eine Übereinstimmung mit der von M. Neisser und Sachs vertretenen Ansicht ergibt, nach welcher Präzipitation und Komplementbindung in praktischer Hinsicht gesondert betrachtet werden müssen.

N. Friedemann (Berlin) wendet sich gegen die Ausführungen von Biedl. Der Symptomenkomplex ist nicht geeignet zur Charakterisierung der Anaphylaxie, da er bei verschiedenen Tieren ein zu ungleiches Bild bietet. Die Existenz von Hämolysinen beweist nichts gegen die Zugehörigkeit der Erythrocytenüberempfindlichkeit; denn die Hämolyse an sich führt keine Krankheitserscheinungen herbei. Die anaphylaktischen Reaktionskörper sind mit den hämolytischen Reaktionskörpern identisch.

Daß eine Anaphylaxie beim Hunde besteht, will Ref. nicht bestreiten. Es kommen aber starke Fehlerquellen in Betracht durch die primäre und ganz irreguläre Giftigkeit artfremder Sera beim Hunde.

Friedberger (Berlin): Wie ich zu meiner Genugtuung konstatieren kann, sind beide Referenten in der Frage der Anaphylaxie im wesentlichen meiner Meinung und erkennen namentlich vollkommen meine Theorie der Anaphylaxie als eine Eiweiß-Antieiweißreaktion in vivo an. Nur das ausgezeichnete Referat des Herrn Friedemann gibt mir Veranlassung, in einzelnen Punkten meine abweichende Ansicht zu dokumentieren.

Ich glaube, Herr Friedemann legt ein zu großes Gewicht auf die Differenzen im Verhalten der verschiedenen Tierarten gegenüber der Anaphylaxie. Ich glaube nicht, daß derartige Unterschiede tatsächlich bestehen. Bei einer Reihe von Tierspezies, die man früher für refraktär hielt, ist es ja später gelungen, Anaphylaxie zu erzeugen. Es wird wohl bei allen Warmblüterspezies möglich sein, das Symptomenbild auszulösen. Verschieden ist nur der Modus der dafür erforderlichen Behandlung und es geht natürlich nicht an, das beim Meerschweinchen optimal erprobte Immunisierungschema kritiklos auf andere Tierspezies zu übertragen. So ist es mir z. B. entgegen der Angabe vieler Autoren gelungen, Kaninchen aktiv so zu anaphylaktisieren, daß sie bei der Reinjektion akut unter Krämpfen eingehen. Nur ist es nötig, große wohlgenährte Tiere zu nehmen,



und die erste Injektion wie die zweite intravenös auszuführen. Auch die passive Uebertragung der Anaphylaxie gelingt beim Kaninchen und auch in der für das Meerschweinchen optimalen Versuchs anordnung, d. h. mit Zufuhr des Antiserums 24 Stunden vor der Injektion des Antigens.

Ebenso unterscheidet sich in bezug auf die Antianaphylaxie das Kaninchen nicht vom Meerschweinchen, wie ich in zahlreichen Versuchen feststellen konnte und in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Gröber auch bei Registrierung von Puls und Atmung konstatiert habe.

Daß das Komplementserum als solches bei der Anaphylatoxinbildung als ein Bestandteil des Giftes neben den Antigenantikörperverbindungen in Frage kommt, wie das Friedemann annimmt, scheint mir ausgeschlossen, da ja durch inaktiviertes Komplementserum das Anaphylatoxin nicht gebildet wird.

Die große Schwierigkeit der Uebertragung der passiven Anaphylaxie bei vorheriger Antigenzufuhr ist nicht auf irgendwelche Hemmungserscheinungen zurückzuführen. Es erklärt sich das einfach aus einem partiell entgiftenden Einfluß des vorgespritzten Antigens auf den Antikörper, wie ich das soeben erst in meinem Vortrag auseinandergesetzt habe.

Im Gegensatz zu den von Friedemann zitierten Versuchen von Gay und Southard muß ich unbedingt daran festhalten, daß es auch bei Vorbehandlung mit großen Dosen nach 14 Tagen gelingt, glatt die Anaphylaxie auszulösen.

Ich habe derartige Versuche bereits vor einiger Zeit in Gemeinschaft mit meinem Schüler Burckhard veröffentlicht. In jüngster Zeit habe ich sie wiederholt und bin zu dem gleichen Resultat gekommen. Ich möchte nicht, wie Friedemann zur Erklärung Unterschiede, im individuellen Verhalten der Meerschweinchen oder Rassenunterschiede heranziehen. Ich habe wenigstens bei den einzelnen Meerschweinchenrassen keine Differenzen gefunden und die ja in der Biologie so häufig herangezogenen „individuellen Unterschiede“ sind meiner Meinung nach gerade in der Anaphylaxiefrage recht vorsichtig zu bewerten. Sie spielten eigentlich ja nur anfänglich auf diesem Forschungsgebiet eine große Rolle, aber in dem Maße, als wir gelernt haben die Technik zu vervollkommnen, war davon immer weniger zu bemerken. Heute können wir wohl sagen, daß bei geeigneter Vorbehandlung und bei intravenöser Injektion passender Dosen nach einem geeigneten Intervall die Anaphylaxie beim Meerschwein in 100 Proz. der Fälle auszulösen ist. Es ist also von einer individuellen Verschiedenheit nichts mehr zu merken. Aehnliche Verhältnisse haben wir ja auch bei anderen Giften. Ich erinnere Sie z. B. an das Diphtheriegift, wo auch nur in den ersten Anfängen die Schwankungen in dem individuellen Verhalten der Tiere Schwierigkeiten bereiteten.

Ich glaube, der artige Differenzen zwischen älteren und neueren Ergebnissen sind vielmehr darauf zurückzuführen, daß in den Anfängen der Anaphylaxieforschung die Technik nicht genügend ausgebildet war und daß man bezüglich der Symptome zu bescheidene Ansprüche stellte, wodurch dem individuellen Ermessen des Untersuchers ein zu breiter Spielraum gewährt war. Endlich aber dachte früher niemand daran, Experimente mit quantitativen Methoden anzustellen, die uns überhaupt erst Dörr und Ruß gelehrt haben. So erscheinen eine ganze Reihe älterer Angaben, so wertvoll die Arbeiten an sich auch für die Erforschung des Anaphylaxieproblems waren, in hohem Grade revisionsbedürftig.

Herr Biedl, der zusammen mit seinem Mitarbeiter Kraus heute allein meine Antikörpertheorie der Anaphylaxie noch nicht anerkennt, hat Ihnen eine Reihe von Argumenten vorgeführt, die seiner Meinung nach gegen meine Theorie sprechen. Biedl behauptet in etwas apodiktischer Weise, daß alle Vorgänge, bei denen Lungenblähung und Lungenstarre noch nicht festgestellt sind, nicht als Anaphylaxie zu deuten seien.

Da dieses Symptom auch bei der Anaphylatoxinvergiftung fehle, so sei das von mir dargestellte Gift, nicht mit den bei der aktiven und passiven Anaphylaxie entstehenden identisch. Nun ist dieses Symptom überhaupt erst von Auer und Lewins vor kurzem beschrieben worden und wir hatten doch bis dahin auch ohnedies die Anaphylaxie zu beurteilen vermocht. Gerade die Anaphylaxie des Meerschweinchens ist ein so typisches und uniformes Krankheitsbild, und die Bedingungen für ihre Entstehung sind so klare, daß gar kein Zweifel bestehen kann. Wir nennen eben Anaphylaxie jenen unter typischen Krämpfen einsetzenden und meist in typischer Weise zum Tode führenden Symptomenkomplex, der durch das Zusammentreffen von Eiweiß und Antieiweiß im Organismus bedingt ist. Das dabei freiwerdende Gift konnte ich im Reagenzglas aus den gleichen Komponenten, die im Tierkörper wirken, reproduzieren, und die Symptome, die ich mit diesem Gifte erzeugte, sind so typisch anaphylaktische, daß

auch der erfahrenste Untersucher keinen Unterschied wahrnehmen kann gegenüber der aktiven und passiven Anaphylaxie.

Daher ist es, wie es auch die Herren Referenten betont haben, wohl vollkommen klar, daß das von mir dargestellte Gift, es ist das auch die sogenannte aktive und passive Anaphylaxie, auslöst.

Biedl führt dann weiter gegen meine Theorie an, daß, insofern kein Parallelismus zwischen Anaphylaxie und Präzipitingehalt des Serums besteht, als ebenso wie das Kaninchen, z. B. das Huhn, ein ausgezeichneter Präzipitinbildner, nach Uhlenhuth und Haendel nicht aktiv anaphylaktisch werde. Nun kann man wohl innerhalb einer und derselben Tierspezies einen Parallismus zwischen Eiweißantikörpergehalt und Anaphylaxie erwarten, nicht aber, wenn man verschiedene Tierspezies miteinander vergleicht. Denn da kommt doch in erster Linie die verschiedene Empfänglichkeit der einzelnen Tierarten gegenüber dem Anaphylatoxin und die Intensität der Anaphylatoxinbildung aus den dabei in Frage kommenden 3 Komponenten in Betracht. Daß für die Anaphylatoxinbildung aber nicht der Präzipitingehalt allein maßgebend ist, dafür zeugt eine meiner vorhin demonstrierten Tabellen. Sicher spielt auch der Komplementreichtum eine gewisse Rolle und das erklärt vielleicht, weshalb das Meerschweinchen im Gegensatz zum Kaninchen so hoch empfänglich ist. Nun aber ist zu bemerken, daß die Angabe von Biedl, daß das Huhn nicht anaphylaktisch wird, überhaupt nicht zutrifft. Hier gilt wieder das gleiche, was ich von den Kaninchen gesagt habe. Bei geeignetem Modus der Behandlung gelingt es beim Huhn fast in jedem Fall typische Anaphylaxie auszulösen. Ich hatte z. B. erst vor einiger Zeit Gelegenheit, Herrn Stabsarzt Händel derartige Tiere zu demonstrieren. Man muß nur, um positive Resultate zu erhalten, große ausgewachsene Hühner nehmen, von gutem Ernährungszustande und sowohl die präparierende Injektion mit 1 ccm als auch die Reinjektion mit der gleichen Dosis in einem Intervall von ca. 8 Tagen vornehmen. Damit fällt also dieser Einwand von Herrn Biedl in nichts zusammen.

Herr Biedl hat dann weiter eingewendet, daß die Anaphylaxie sich nicht passiv vom Huhn auf das Meerschweinchen übertragen lasse, obwohl das Meerschweinchenkomplement nach Moreschis Untersuchungen vom Vogelpräzipitat im Reagenzglas verankert wird. Das Komplement könne also danach nicht bei der Anaphylaxie die ihm von mir vindizierte Rolle spielen. Ob das Komplement durch ein Vogelpräzipitat im Reagenzglas gebunden wird, ist keineswegs das wesentliche Moment, es kann sehr wohl durch ein Vogelpräzipitat im Reagenzglas absorbiert sein, braucht aber noch lange nicht mit dem Vogelambozeptor derartig sich zu verankern, daß das Anaphylatoxin abgespaltet wird; und daß dem nicht so ist, dafür sprechen die bekannten Untersuchungen von Wechsberg, der fand, daß ein Säugerambozeptor nicht den Vogel vor Vibrio Metschnikoffinfektion schützt und umgekehrt, weil eben die betreffenden Komplemente nicht passen.

Auch die von Herrn Biedl gegen meine Theorie angeführte Tatsache, daß ein Paralellismus zwischen der Schwere der Symptome und dem Grad der Komplementverarmung nicht besteht, habe ich ja in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Hartoch schon festgestellt. Das beweist aber nichts, denn für die Anaphylatoxinbildung kommen neben dem Komplement ja auch noch die beiden anderen Komponenten Antigen und Antikörper in Betracht. Wie kompliziert gerade hier die Verhältnisse liegen, zeigen meine ihnen eben vorgetragenen Untersuchungen.

Schließlich wendet sich Herr Biedl, um die Bedeutung des Komplements zu erschüttern, auch noch gegen meine Salzversuche.

Ich konnte bekanntlich den Ausbruch der Anaphylaxie bei den aktiv präparierten Tieren dadurch verhindern, daß ich dem Salzgehalt des Serums durch Kochsalzinjektion oder Kochsalz mit einem geringen Zusatz von Chlorkalzium erhöhte. Unter beiden Bedingungen gelang es die aktiv präparierten Tiere gegenüber der akut tödlichen Dosis zu retten, wie ich annehme deshalb, weil bei der erhöhten Salzkonzentration die Komplementverankerung gehemmt, bzw. verzögert war.

Herr Biedl verwirft diese Versuche und ihre Beweiskraft. Er hat nicht etwa die Experimente nachgeprüft und nicht bestätigen können, sondern er hat davon Abstand genommen, weil ihm die Meerschweinchen bei der Vorbehandlung mit Kochsalz zu leicht eingingen.

Das war auch bei uns der Fall, aber bei einiger Uebung Geduld und gelang es sehr wohl, die Injektion mit Erfolg durchzuführen.

Beim Hund ist es Biedl und Kraus auch einmal gelungen, genügende Mengen von Kochsalz einzuführen, der Hund zeigte aber bei der nachfolgenden Reinjektion typische Anaphylaxie. Das scheint mir nicht allzu viel zu beweisen. Die Anaphylaxieverhältnisse lagen ja beim Huhn noch recht verwickelt und ich weiß nicht,



ob die Autoren so quantitativ vorgehen konnten und zunächst einmal die im Kontrollversuch tödliche Dosis ermittelt haben; denn der rettende Einfluß der Salzlösung macht sich natürlich nur gegenüber einem geringen Multiplum der Dosis letalis geltend. Wenn man aber genau quantitativ vorgeht, wie es ja bei der aktiven wie passiven Anaphylaxie des Meerschweinchens leicht ausführbar ist, so findet man, daß in jedem Fall die sicher tödliche Dosis von dem vorher gesalzenen Tier vertragen wird. So gelang es uns z. B. bei der aktiven Anaphylaxie in einer Versuchsreihe hintereinander 4 Tiere zu retten bei einer Eiweißdosis, der 5 Kontrollen erlagen.

Bei der passiven Anaphylaxie bewahrte die Salzinjektion 5 Tiere vor der akut tödlichen Wirkung einer Dosis, der 3 Kontrollen erlagen. Beim Kaninchen war gleichfalls der Einfluß der Salzinjektion unverkennbar. Das zeigen die in Maßstab 1—5 verkleinerten Kurven, die der Arbeit beilagen, und die ich Ihnen hier noch einmal herumgebe.

Sie sehen daraus, daß die typische Beeinflußung von Puls und Atmung, wie wir sie bei den Kontrolltieren sehen, bei den mit Salz vorgespritzten Tieren fehlt. Eine geringe allmähliche Drucksenkung ist allerdings vorhanden, es fehlt aber die Vaguspulse und die Irregularitäten der Atmung.

Nun behauptet Herr Biedl weiter, daß bei meinen mit Salz behandelten Meerschweinchen, wie das unsere eigenen Tabellen ergeben, gleichfalls eine Komplementverarmung zu konstatieren sei. Es könne also von einer Wirkung des Salzes in meinem Sinne nicht die Rede sein.

Diese Angaben von Herrn Biedl sind geeignet, irreführend zu wirken. Ich war es selbst, der ausdrücklich in der Arbeit darauf hingewiesen hat, daß auch bei den Salztieren Komplementschwund eintritt, dieser aber bedeutend geringer ist, als bei den Kontrollen. Daß das aber keineswegs gegen die Deutung in meinem Sinne spricht, habe ich bereits in der Arbeit ausführlich diskutiert, wo es heißt: „Jedenfalls zeigen uns also die Salzversuche, daß die Verhinderung der Komplementverankerung keine absolute ist. Ein geringer Teil des Komplements wird immer noch gebunden, aber offenbar ist die Menge, die kurz nach der Reinjektion zur Verankerung gelangt, zu gering, um eine nachweisbare Vergiftung hervorzurufen. Mit der Rückkehr zur Isotonie wird wahrscheinlich gradatim mehr und mehr von dem Komplement verankert, aber die in einem gegebenen Zeitpunkt gebundene Komplementmenge erreicht wohl nie die Dosis, die zur Auslösung der Anaphylaxie notwendig ist.“

Obwohl das von mir dargestellte Anaphylatoxin, wie sich klipp und klar aus meiner Versuchsanordnung ergibt, nur unter Mitwirkung des Komplements gebildet ist, es auch bei der gewöhnlichen Form der Anaphylaxie in Aktion tritt und obwohl es subjektive und objektive Symptome auslöst, die sich in nichts von denen der passiven und aktiven Anaphylaxie unterscheiden, so glaubt Herr Biedl doch, daß mein Gift deshalb nicht das echte Anaphylatoxin sein kann, weil es nach meinen eigenen Versuchen vom Gehirn aus nicht wirkt.

Die Tatsache hat Herr B. richtig zitiert, aber er hat wieder meine Erklärung dafür vorenthalten. Ich sage darüber:

„Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß ein von der Blutbahn aus akut wirkendes anaphylaktisches Gift bei der direkten Einspritzung ins Zentralnervensystem, allerdings in entsprechend geringeren Dosen, keinerlei Vergiftungserscheinungen hervorruft. Dieser Befund steht mit der auf die Versuche Besredkas geschützten Anschauung, wonach beim aktiv anaphylaktischen Tier die Vergiftung durch Fixation des Giftes an den Zellen des Zentralnervensystems selbst erfolgt, keineswegs im Widerspruch. Denn wenn auch die sessilen Antieiweißkörper, die wir an den Nervenzellen sitzend annehmen dürfen, sehr wohl imstande sind, das Antigen zu verankern und so eine Giftbildung selbst erfolgen zu lassen, so braucht doch deshalb keineswegs auch das fertig gebildete Gift eine besondere Affinität zu allen Nervenzellen zu besitzen. Wenn es auf dem Blutwege an die empfindlichen Zellen herankommt, so ist es andererseits nicht anzunehmen, daß es, in irgendeine Stelle des Großhirns injiziert, gleichfalls dahin diffundiert.“

In den Versuchen Besredkas handelt es sich eben um etwas ganz anderes; hier wird das Gift erst im Gehirn gebildet, unter für die Verankerung besonders günstigen Bedingungen. Deshalb braucht aber das fertige Gift keineswegs besondere Affinität zum Zentralnervensystem zu haben.

Ich komme also zu dem Schluß, daß die Rolle des Komplements, bei der Anaphylaxie, die sich ja als eine notwendige Konsequenz des Wesens der Anaphylaxie von vornherein ergibt, durch die Kritik, die Herr Biedl an meinen Versuchen geübt hat, in keiner Weise erschüttert ist.



Im Gegenteil, sie ist wesentlich weiter gesichert und gestützt, durch meine vorhin vorgetragenen Versuche über das Anaphylatoxin.

Bezüglich der Angriffe des Herrn B. auf unsere Blutdruckversuche möchte ich bemerken, daß wir ausschließlich die Senkung konstatiert haben, über ihre Bedeutung haben wir uns nicht weiter geäußert, der Druck sinkt in den von uns bisher veröffentlichten Kurven mehr als um 50 Proz. — Das ist wohl für jeden deutlich sichtbar, nur die Herren Biedl und Kraus glaubten hier keine Drucksenkung erkennen zu können, indem sie schreiben: „In der Arbeit beigegebene Kurven vermögen wir typische Drucksenkung nicht zu erkennen.“ Ich verweise Sie hier diesbezüglich nochmals auf die Ausführungen des Herrn Gröber und die Demonstration unserer Kurven.

Schließlich möchte ich noch den Ausführungen des Herrn Haendel gegenüber, daß die anaphylaktischen Reaktionskörper und der komplementablenkende Antikörper, früher da sind als das Präzipitin, erneut darauf hinweisen, daß das doch keineswegs gegen einen einheitlichen Antikörper spricht. Es handelt sich da nur um verschieden empfindliche Reaktion zum Nachweis ein und desselben Antikörpers.

Weichardt (Erlangen): Herr Doerr glaubt Meeerschweinchen seien für Anaphylaxieversuche bei weitem am geeignetsten. Das dürfte zu sehr verallgemeinert sein: Wie wir beide, Schittenhelm und ich in Bestätigung der Friedemannschen Feststellungen haben zeigen können, besteht bei der Anaphylaxie gleichzeitig eine Störung des Eiweißstoffwechsels. Dieses ist aber ein vorzügliches Kriterium für anaphylaktische Störungen. Wie allgemein bekannt, sind nun Pflanzenfresser im allgemeinen schwer, Fleischfresser relativ leicht und exakt im Eiweißstoffwechselgleichgewicht zu halten. Deshalb bedarf es für gewisse feinere Anaphylaxiestudien unbedingt auch der Hunde als Versuchstiere.

Die Ausführungen der Herren Lockemann und Thies begrüße ich. Kommen diese Autoren doch im Grunde zu derselben Anschauung, welche ich selbst schon vor vielen Jahren (1901) aufgestellt und dann unausgesetzt verteidigt habe, nämlich, daß die eklamptischen Erscheinungen als Ueberempfindlichkeit, als Anaphylaxiesymptome aufgefaßt werden müssen. Allerdings wurde zu diesen Studien auf Grund früherer Befunde Schmorls das Syncitialeiweiß der Plazenta verwendet. Ein prinzipieller Unterschied besteht aber darin sicherlich nicht, da ja vollkommene Abtrennung des fötalen Blutes von den Plazentarbestandteilen nicht möglich ist.

Um meine Ansichten mit dem soeben Gehörten in Einklang zu bringen: Die von mir bereits seit langem verteidigte Grundanschauung, daß durch Cytolysine, die auf injiziertes Eiweiß einwirken, toxische Substanzen gebildet werden, sollte man meines Erachtens als tatsächlich ansehen und nicht ohne zwingenden Grund beiseite schieben. Auch für meinen späteren Hinweis in No. 15 des Centralblattes für die gesamte Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels fordere ich das den Tatsachen Entsprechende: Es wird in dieser meiner Veröffentlichung klipp und klar auseinandergesetzt, daß dieser cytolytische Prozeß gemäß den heutigen physiologischen chemischen Anschauungen gleichzusetzen ist einer parenteralen Verdauung, bei welcher aus dem kolloidalen Eiweiß Eiweißhydrolyseprodukte mit Volumenenergie entstehen, die natürlich, falls sie in der Nähe lebenswichtiger Zentren auftreten, schwere anaphylaktische Erscheinungen verursachen.

Přibram (Wien): Die wichtigsten in Diskussion stehenden Ergebnisse der heutigen Referate und Vorträge, die Analogie zwischen Anaphylaxie und Peptonwirkung einerseits, der Komplementschwund andererseits dürften doch wohl in einer inneren Beziehung stehen. Bevor ich darauf eingehe, muß ich die Frage erörtern, ob wir es mit einer Peptonwirkung zu tun haben, oder nur mit einer peptonähnlichen Wirkung. Darüber geben einige von E. Pick und mir im Serotherap. Institut in Wien angestellten Versuche Aufschluß: Das Pepton müßte durch Zusammentreffen von Antigen und Antikörper synthetisch oder durch Proteolyse entstehen. Letzteres wäre wahrscheinlicher. Entweder kann ein proteolytisches Ferment durch die Reaktion entstehen oder ein bis dahin latentes Ferment frei werden. Im ersteren Falle würde durch ein Serum nach der Präzipitation eine Proteolyse zustande kommen. Dies ist, wie aus diesbezüglichen Versuchen von Pick und mir hervorgeht, nicht der Fall (Verdauungsversuche an Seidenpepton); ebensowenig fällt eine antiproteolytische Serumwirkung weg (Verhalten gegenüber Trypsin). Dadurch wird es überhaupt recht unwahrscheinlich, daß wir es mit einer fermentativen Eiweißspaltung zu tun haben, da alle bisher bekannten proteolytischen Fermente durch natives Serum in ihrer Wirkung beeinträchtigt werden. Die von Friedemann in Betracht gezogene „Mobilisierung von Leberpepton“ ist nicht unbedingt zu leugnen, bisher aber durch keinerlei Beweis gestützt. Jedenfalls werden wir



aber noch den von Friedberger festgestellten Komplementschwund in Betracht zu ziehen haben. Die Erscheinung des Komplementschwundes ist ein eminent physikalisches Phänomen, das, wie ich gezeigt habe,[1]) mit Hämolyse, Präzipitation häufig parallel geht, und durch physikalisch wirksame Substanzen ausgelöst werden kann. Derartig physikalisch wirksame Substanzen sind durchwegs toxisch im Gegensatze zu physikalisch unwirksamen (Alkaloide!), und zwar intensive Neurotoxine. Auch das Pepton hat bei Zusatz zu Serum eine ganz bestimmte, intensive physikalische Wirksamkeit (im Sinne der Herabsetzung der inneren Reibung). Es liegt also der Gedanke nahe, daß auch hier Präzipitation, Komplementschwund und toxische (neurotoxische) Wirkung in einem inneren Zusammenhange, vielleicht auf physikalisch-chemischer Basis beruhen.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Was die Brauchbarkeit der verschiedenen Tiere zu Anaphylaxieversuchen betrifft, so ist zweifellos das Meerschweinchen das geeignetste. Sicherlich gilt das für die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxiereaktion, da es am leichtesten anaphylaktisch wird und verhältnismäßig kleiner Mengen fremden Eiweißes bedarf, um anaphylaktisch zu werden.

Wir haben im Kaiserl. Gesundheitsamte mit Haendel zusammen 1 Affen anaphylaktisch zu machen versucht. Er erhielt 1,0 ccm Pferdeserum subkutan, nach 5 Wochen 10 ccm intraperitoneal und zeigte keine Symptome.[2]) Es ist das um so auffallender als nach Doerr der Mensch sehr leicht anaphylaktisch wird.

Bei Gänsen und Enten haben wir sehr typische Anaphylaxie gesehen nach einmaliger Vorbehandlung.

Es gelang uns nicht — im Gegensatz zu Sachs — Ratten und Mäuse bei einmaliger Vorbehandlung — auch bei intravenöser Nachimpfung — anaphylaktisch zu machen. Trommsdorff hat in unserem Laboratorium dasselbe Resultat erzielt (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 32, 1909). Auch konnten wir zusammen mit Schern bei Ferkeln, die mit 1—4 ccm Pferdeserum vorbehandelt und mit 10—20 ccm intravenös nach 4—5 Wochen nachgespritzt wurden, Anaphylaxie nicht beobachten.

Kaninchen sind nach unseren Versuchen auch nicht geeignet für Anaphylaxieversuche, die Symptome sind nicht so charakteristisch wie bei Meerschweinchen.

Was die praktische Verwertbarkeit der Reaktion anbetrifft, so möchten wir kurz folgende Beobachtungen mitteilen.

1. Versuche zur Differenzierung von Menschen- und Affenblut (Uhlenhuth und Haendel). Von einem Affen, der mehrere Male mit Menschenblut vorbehandelt war und schwache Präzipitine geliefert hatte, wird Serum gewonnen. Mit 2,0 ccm werden Meerschweinchen i. p. vorbehandelt. Nach 24 Stunden werden sie teils mit Menschen- (I. Gruppe), teils mit Affenserum (II. Gruppe) gespritzt. Deutliche Anaphylaxie auf Menschen- nicht auf Affenserum.

Nach 24 Stunden werden alle Tiere mit Menschenserum nachgeimpft; die der I. Gruppe reagieren nicht, die der II. Gruppe sehr stark.

Es läßt sich also auf diese Weise auch die Verschiedenheit des Menschen- und Affeneiweißes nachweisen, ähnlich wie Uhlenhuth das früher durch die kreuzweise Immunisierung festgestellt hat.

Aehnliche Versuche zur Differenzierung von Hammel- und Ziegen-, Pferde- und Eselblut sind im Gange.

2. Versuche zur Differenzierung von Normal- und Immunserum (präzipitierendes Serum) (Uhlenhuth und Haendel). 5 Meerschweinchen werden mit 1,0 ccm Serum von Meerschweinchen subkutan vorbehandelt, welche 6—8 mal mit großen Dosen Rinderserum gespritzt waren. Das Serum hatte auf Rinderserum deutlich präzipitierende Wirkung.

Nach 4 Wochen Prüfung intrakardial mit 1—3 ccm Serum von Meerschweinchen, welche ebenfalls mit Rinderserum vorbehandelt waren. Ergebnis negativ.

3. Anaphylaxie mit Fisch- und Froscheiweiß (Uhlenhuth und Haendel).

a) Mit Fischeiereiweiß (Regenbogenforelle) vorbehandelte Meerschweinchen reagieren auf die Nachbehandlung mit Extrakt von Fischeiern deutlich anaphylaktisch, nicht bei Nachimpfung mit Fischfleisch oder Fischsperma. Ebenso reagierten die mit

[1]) Bezüglich des Peptons ist eine ähnliche Wirkung von Löwenstein festgestellt worden.

[2]) Diese Beobachtung ist inzwischen durch Yamanouchi bestätigt worden. Compt. rend. de la Soc. de Biologie, Tome LXVIII, 1910, No. 21.



Fischfleisch sensibilisierten Tiere in der Regel nur auf die Prüfung mit homologen Extrakt

b) Mit Froscheiern vorbehandelte Meerschweinchen werden anaphylaktisch bei Prüfung mit Froscheiern, nicht mit Froschfleisch, wohl aber allerdings nur in geringem Grade mit Kaulquappenextrakt.

c) Mit Froschfleisch vorbehandelte Tiere wurden nicht auf Eierextrakt überempfindlich, wohl aber auf Froschfleisch. Die Versuche werden fortgesetzt und sollen das Froscheiweiß in allen Entwicklungsstadien des Frosches vom Ei bis zum Frosch verfolgen. Auch soll besonders die Spezifität der Geschlechtszellen (Dunbar) verfolgt werden.

4. Versuche zum Nachweis natürlicher Anaphylaxie (Uhlenhuth und Haendel). Das Eiereiweis ist bekanntlich mit dem Bluteiweiß nicht identisch.

Es wäre daher möglich, daß Legehühner gegen Eiereiweiß spontan anaphylaktisch sind. Hühner und Hähne wurden bei intravenöser Einspritzung von Eiereiweiß nicht anaphylaktisch. Auch machten subkutane Einspritzungen keine Infiltrate oder Nekrosen. Von Hähnen konnten präzipitierende Sera gegen Eiereiweiß nicht gewonnen werden.

2 Meerschweinchen, die mit ihrer eigenen Milch — ebenfalls biologisch vom Blute recht verschieden — intravenös gespritzt wurden, zeigten (Dr. Clough) in einigen Fällen leichte anaphylaktische Erscheinungen, jedoch ist ein sicheres Urteil noch nicht abzugeben.

Männliche Meerschweinchen sind gegen ihre eigene Hodensubstanz nicht anaphylaktisch.

5. Versuch, ultravisibles Virus durch passive Anaphylaxie nachzuweisen (Uhlenhuth und Haendel), fielen negativ aus. Meerschweinchen wurden mit hochwertigem Schweinepestimmunserum (vom Schwein) vorbehandelt und mit Virus (Serumfiltrat vom Schwein) nachbehandelt.

6. Anaphylaxie gegen Haare (Uhlenhuth und Steffenhagen). Menschen- und Tierhaare (Maus, Ratte, Schaf) werden in Antiformin aufgelöst und Meerschweinchen vorbehandelt. Nachbehandlung mit entsprechendem Serum des Menschen oder der Tiere. In einigen Fällen konnten Erscheinungen der Anaphylaxie festgestellt werden. Doch ist die Zahl der Versuche noch nicht ausreichend, um über die praktische Brauchbarkeit zur Differenzierung Aufschluß zu geben.

7. Anaphylaxie gegen das durch Stich der *Stomoxys* übertragene Blut (Uhlenhuth und Schern). Zirka 15 *Stomoxys*, die noch nie gesaugt haben, werden an drei aufeinanderfolgenden Tagen erst an einen Esel, dann an 4 Meerschweinchen gesetzt. Es werden hierbei immer dieselben *Stomoxys* verwendet. In gleicher Weise wird ein ebensolcher Versuch mit Schweineblut angesetzt.

Außerdem werden in 2 anderen Versuchsreihen die *Stomoxys* nur an einem Tage an einen Esel, bzw. Schwein und hiernach an Meerschweine gesetzt.

Bei der 4 Wochen später erfolgenden Prüfung der Meerschweine mit den entsprechenden Eiweißarten, wird keins der Tiere anaphylaktisch.

Aus diesem Versuch folgt, daß bei dem Stich auch zahlreicher *Stomoxys* weniger Blut von einem Tier zum anderen übertragen wird, als zur Anaphylaxie ausreicht. Diese geringe Menge reicht aber, wie aus anderen Versuchen (Schuberg und Kuhn) bekannt ist, aus, um gegebenenfalls eine Trypanosomeninfektion zu vermitteln.

Es sei noch erwähnt, daß es gelang, Meerschweinchen gegen den Extrakt von Stubenfliegen und *Stomoxys* anaphylaktisch zu machen, wie das früher uns auch bei Bienen (Uhlenhuth und Haendel) gelungen war. Man konnte daran denken, diese Methode für die Bestimmung und zum Studium der Verwandtschaft unter den Insekten heranzuziehen. Auch liefern Kaninchen spezifische Präzipitine gegen Fliegeneiweiß.

8. Zur Trypanosomenanaphylaxie (Uhlenhuth und Schern). Neugeborene Kaninchen werden mit stark trypanosomenhaltigem (Dourine) Mäuseblut infiziert und nach eingetretener starker Blutinfektion (nach 3—4 Tagen) getötet. Mit dem noch besonders präparierten Blut wurden Meerschweinchen sensibilisiert. Bei der Nachimpfung mit stark trypanosomenhaltigem Rattenblut deutliche Anaphylaxie. Kontrollen: Neugeborene Kaninchen erhalten normales Mauseblut. 3—4 Tage nachher werden sie entblutet und ihr Blut in gleicher Weise zur Sensibilisierung von Meerschweinchen verwendet. Auch diese Tiere werden bei der Prüfungsinjektion mit Rattenblut anaphylaktisch.

Daraus ergibt sich die interessante Tatsache, daß das zur Infektion der Kaninchen benutzte noch im Körper kreisende Mäuseblut die Reaktion bewirkt hat, und zwar

eine Verwandtschaftsreaktion wie sie mit der Anaphylaxie zwischen Mause- und Rattenblut in meinem Laboratorium von Trommsdorff festgestellt ist. Mit der Präzipitation und Komplementbindung läßt sich bekanntlich Mause-Rattenblut unterscheiden (Uhlenhuth und Weidanz) und besonders präparierter Meerschweinchen mit infiziertem Rattenblut (Dourine) sensibilisiert und mit infiltriertem Blut junger Kaninchen nachgeimpft, wurden in einem Versuche nicht überempfindlich.

Weitere Versuche mit mehrmaligem Kaninchenpassageblut sind im Gange zur endgültigen Klärung der Frage.

9. Echinokokken-Leberegel-Anaphylaxie. Serum eines echinokokkenkranken Menschen und Tiers sowie Serum eines leberegelkranken Rindes wird zur passiven Sensibilisierung von Meerschweinchen verwendet (Citron und Schern). Diese Tiere wurden auf Prüfung mit eingeengten Echinokokken resp. Leberegelflüssigkeit nicht anaphylaktisch. Da nur diese wenigen Versuche ausgeführt wurden, kann natürlich ein definitives Urteil über die Brauchbarkeit dieses Verfahrens noch nicht abgegeben werden.

10. Zur Linsenanaphylaxie (Uhlenhuth und Schern). Kaninchen sind 6mal gespritzt worden mit großen Dosen zerriebener, getrockneter Kaninchenlinsen. Jedes Tier hat 12 ½ Linsen bis jetzt erhalten.

Den Tieren ist Blut entzogen worden, und das Serum ist Meerschweinen injiziert worden. Bei der Prüfung mit Linsen (frisch und trocken, zerrieben in NaCl) sind diese Meerschweine niemals passiv anaphylaktisch gewesen.

Das Serum der Kaninchen mit Linsenlösungen vermischt hat auch niemals eine Präzipitation ergeben.

Demnach haben sich bis jetzt im Blut der Kaninchen Antikörper gegen eigenes Linseneiweiß nicht nachweisen lassen, was auffallend ist, da die Linse gleichsam ein artfremder Eiweißkörper ist und Meerschweinchen gegen ihr eigenes Linseneiweiß anaphylaktisch werden. (Uhlenhuth, Haendel, Andrejew.)

11. Bezüglich der Pflanzenanaphylaxie und der praktischen Verwertung zur Erkennung von Verfälschungen in Futtermitteln sei auf die im Kaiserl. Gesundheitsamt auf meine Veranlassung von Schern ausgeführte Arbeit (Archiv f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde, Festschrift Schütz) hingewiesen.

Dort sind auch Versuche mit Rotz und Tuberkulose aufgeführt, die bei passiver Uebertragung zu diagnostischen Zwecken kein positives Resultat ergaben. Es gelang Schern die Mastitis durch passive Anaphylaxie zu erkennen.

Was schließlich die unter meiner Leitung ausgeführten anaphylaktischen Versuche mit Nährpräparaten von Hailer anlangt, so sind sie praktisch recht wichtig. Entgegen der bisherigen Annahme scheint stark abgebautes Eiweiß seine Spezifität einzubüßen. Natives oder wenig verändertes Eiweiß wirkt jedoch spezifisch. Trotzdem ist die Anaphylaxiereaktion für die Praxis, wie wir stets betont haben, nur mit größter Vorsicht zu verwenden, da sie eigentlich überhaupt nur eine Hilfsreaktion neben der Präzipitation darstellt. Die vivo-Reaktion ist keine zuverlässige, da die Symptome nicht eindeutich genug und die Tiere individuell zu verschieden sind. Je länger man mit der Anaphylaxie arbeitet, desto zweifelhafter wird man in der Beurteilung des Symptomenkomplexes. Pro foro würde man mit der Anaphylaxie allein niemals auskommen. Hoffentlich gelingt es noch einmal, die Anaphylaxie als vitro-Reaktion zur Darstellung zu bringen.

Die Anaphylaxie hat zur Lösung wissenschaftlich-biologischer Probleme (Mumienuntersuchung, Differenzierung von Fetten usw.) gute Dienste geleistet und wird es ferner tun, für den Ernst der Praxis ist sie leider allein nicht ausreichend. Hier ist nur die Präzipitation entscheidend, wenn auch mit dieser Methode der Nachweis so winziger Eiweißspuren wie mit der Anaphylaxie nicht gelingt.

Biedl (Wien): Gegenüber Friedemann muß ich die symptomatologische Charakterisierung als dringend notwendig zu weiteren Klärungen auf dem Gebiete der Anaphylaxie halten. Nachdem beim näheren Studium des Mechanismus die ursprüngliche Versuchsanordnung immer mehr verlassen wird, müssen wir einen festen Stützpunkt, sei es im Symptomenbilde, sei es im anatomischen Befunde, suchen und ein solcher ist nunmehr auch für das Meerschweinchen gegeben. Jetzt ist es möglich, alle Angaben über den sog. anaphylaktischen Shock zu prüfen und miteinander zu vergleichen. Und hier zeigt es sich, daß das Anaphylatoxin mit der Anaphylaxie nichts zu tun hat, sondern ein nur von der Blutbahn aus wirksames Gift darstellt.

In der Differenz der Wirkung des Giftes bei verschiedenen Tierarten kann kein Gegenbeweis gegen die Einheit der Giftsubstanz erblickt werden. Wir haben aber die

Identität des anaphylaktischen Giftes mit Pepton nicht behauptet, nachdem wir uns dessen stets bewußt waren, daß unter Pepton keine chemisch definierte, sondern nur durch bestimmte physiologische. Wirkungen charakterisierte Substanz zu verstehen ist.

Haendel (Gr.-Lichterfelde): Im vorigen Jahre hatten Herr Geheimrat Uhlenhuth und ich über die nekrotisierende Wirkung normaler Sera, speziell des Rinderserums berichtet. Wir neigten damals noch der Auffassung zu, daß die Giftigkeit der Sera eventuell von ihrer nekrotisierenden Wirkung zu trennen sei, weil wir beobachtet hatten, daß inaktivierte Rindersera zwar keine Nekrose mehr hervorriefen, also auch im Unterhautzellgewebe des Meerschweinchens durch Meerschweinchenkomplement nicht komplettiert wurden, trotzdem aber kurz nach der Inaktivierung bei intrakardialer Applikation Meerschweinchen noch zu töten vermochten. Durch weitere Untersuchungen konnten wir nun diese scheinbare Differenz dahin aufklären, daß durch große Mengen von Meerschweinchenkomplement inaktivierte Rindersera doch noch, wenn auch nur in geringerem Grade, reaktiviert werden können, allerdings nur während einer gewissen Zeit nach der Inaktivierung. Bei subkutaner Applikation bewirkt ein solches Rinderserum natürlich keine Nekrose mehr, da im Unterhautzellgewebe zu wenig Komplement zur Komplettierung vorhanden; anders liegen die Dinge bei direkter Einführung des Serums in die Blutbahn des Meerschweinchens, hier stehen zur Komplettierung ausreichende Komplementmengen zur Verfügung, das Serum wirkt daher noch toxisch. Diese Giftigkeit nimmt aber ebenso wie die Komplettierbarkeit bald ab. Es beruhte sonach auch die Giftigkeit wie die nekrotisierende Wirkung der Sera auf einer komplexen Wirkung von Komplement und Ambozeptor. Nachdem die neueren Anaphylaxieuntersuchungen gezeigt hatten, daß auch dieses Phänomen auf einer Komplement-Ambozeptorwirkung beruht, so lag es nahe, die giftige Wirkung normaler Sera und die Vorgänge bei der Anaphylaxie in Parallele zu setzen und als wesensgleich aufzufassen, wie dies von Doerr auch bereits hervorgehoben wurde.

Wir hatten im vorigen Jahre ferner berichtet, daß es uns nicht gelungen war, aus normalem Rinderserum durch Abbinden mit Meerschweinchenblutkörperchen bei 0° die betreffenden Ambozeptoren völlig zu entfernen. Wir haben nun ein Rind mit Meerschweinchenblutkörperchen behandelt, u. a. auch in der Hoffnung, mit der Abbindung bei 0° bei den Immunambozeptoren mehr Glück zu haben; das war aber nicht der Fall. Es gelang auch hier nicht, ein zwar komplementhaltiges aber ambozeptorfreies Rinderserum zu bekommen. Wir sahen aber, daß das gegen Meerschweinchenblutkörperchen gerichtete inaktivierte Rinderimmunserum zwar etwas besser als normales Rinderserum, aber doch auch nur verhältnismäßig schlecht durch Meerschweinchenkomplement aktiviert wird und daß die Komplettierbarkeit mit der Zeit ebenfalls abnimmt. Das inaktivierte Rinderimmunserum wirkte daher ebenfalls nicht besonders toxisch auf Meerschweinchen.

Diese schlechte Komplettierbarkeit des Rinderserums durch Meerschweinchenserum würde sich wohl auch bei passiven Anaphylaxieversuchen mit vom Rind stammenden präzipitierenden Seris bei Meerschweinchen insofern geltend machen, als es wahrscheinlich nur schwer oder unter Umständen gar nicht gelingen wird, mit derartigen Seris bei Meerschweinchen passive Anaphylaxie zu erzeugen.

Anders verhält sich ein gegen Meerschweinchenblutkörperchen gerichtetes Eselimmunserum. Das normale Eselserum verursachte weder Nekrose noch wirkte es in den gewöhnlich angewandten Dosen toxisch. Nach kurzer Behandlung schon wirkte aber das Immunserum dann ganz erheblich giftig und zwar in inaktiviertem Zustande, da es durch Meerschweinchenkomplement gut komplettiert wurde, eher noch in etwas höherem Grade. Subkutan bewirkte es starke Infiltrate, zur Nekrosebildung kam es nicht, da die Tiere schon zu früh zugrunde gingen.

Die Gewinnung von Anaphylatoxin aus den mit Eselimmunambozeptor beladenen Meerschweinchenblutkörperchen mittels Meerschweinchenkomplement gelang uns bisher noch nicht. Es fiel uns aber bei den allein mit diesem Ambozeptor behandelten Blutkörperchen eine besondere Fragilität auf, die sich darin offenbarte, daß bei dem Waschen jeweils schon Blutfarbstoff austrat, während wir dies bei den genau in gleicher Weise behandelten, aber mit Rinderambozeptor sensibilisierten Blutkörperchen nicht beobachten konnten. Ueber diese Untersuchungen wird von Uhlenhuth und mir noch besonders berichtet werden.

Auf die Diskussionsbemerkungen von Herrn Professor Sachs möchte ich erwiedern, daß seine Auffassung, wonach Präzipitation und Komplementbindung zwei auf verschiedenen Grundlagen beruhende Methoden darstellen, schon früher von mir geteilt worden ist. Meine Ausführungen über Auswertung von Antieiweißseris hatte ich des-

halb vorgetragen, weil ähnliche Beobachtungen, daß hochwertige präzipitierende Sera eventuell nur eine geringe komplementbindende Kraft entfalten können, bisher noch wenig bekannt geworden sind.

Bezüglich der Identität der Präzipitine und der anaphylaktischen Antikörper möchte ich schließlich Herrn Professor Friedberger gegenüber noch erwähnen, daß gerade bei der Annahme einer besonderen Empfindlichkeit der Anaphylaxiereaktion es nicht recht verständlich ist, daß bei vergleichenden passiven Anaphylaxieversuchen mit mehreren verschieden wirksamen präzipitierenden Seris bei Vorbehandlung der Tiere nach Doerr-Moldovan mit fallenden Antiserummengen, dann, wenigstens nach unseren bisherigen Versuchen, die kleinsten eben noch zur Sensibilisierung ausreichenden Antiserumdosen auch bei hinsichtlich der Präzipitation ganz verschieden wirksamen präzipitierenden Seris verhältnismäßig nicht weit auseinander liegen und daß man anscheinend auch bei ganz hochwertigen Seris über 0,01 ccm nicht viel hinuntergehen kann. Bei der umgekehrten Versuchsanordnung, Vorbehandlung mit gleichen Mengen von Antiserum und Prüfung mit fallenden Antigendosen erhält man ja allerdings differentere Ausschläge, die aber auch nicht immer vollkommen der verschieden präzipitierenden Wirkung der einzelnen Seris parallel zu gehen scheinen.

Doerr (Wien) möchte abschließend bemerken, daß Referenten und Vortragende in einem wichtigen Punkte übereinstimmten, indem alle zugaben, daß die Anaphylaxie eine Antigenantikörperreaktion sei. Das sei bereits als ein positives Ergebnis der Diskussion anzusehen. Dagegen waren die Meinungen über die Natur des Antigens, des Antikörpers und über die Rolle eines dritten Faktors, des Komplementes, geteilt. Was nun das Antigen anlangt, so verweist D. nochmals darauf, daß die Spezifität, die Gruppenreaktionen, die Eigenschaften des Eiweißes der Linse und der Erythrocyten, die Sonderstellung der Geschlechtszellen beim artspezifischen Eiweiß übereinstimmen, ob man es nun als Präzipitinogen, Lysinogen oder Anaphylaktogen betrachtet. Es liegt also kein Grund vor, dieses einheitliche Antigen in zahlreiche Begriffe aufzuspalten, wie dies auch in der Debatte sowie in den mitgeteilten Versuchsergebnissen ausnahmslos zum Ausdruck kam. Nur H. Kraus will ein besonderes anaphylaktisches Antigen als Sensibilisinogen unterscheiden, indem er die angeführten Argumente für eine einheitliche Auffassung außer acht läßt, und bloß anführt, daß ein von Doerr und Moldovan versuchter Nachweis der Identität nicht stichhaltig sei. Doerr und Moldovan haben Rinderserum und Präzipitin in gewissen Mengenverhältnissen in vitro gemengt und nach vollendeter Präzipitation gefunden, daß sich das Rindereiweiß nicht mehr durch die anaphylaktische Reaktion nachweisen lasse. Kraus meint demgegenüber, daß es sich hier um quantitative Ausflockung von Immunsubstanzen handeln könne, wie bei der Ausfällung des Antitoxins aus Diphtherieserum durch Pferdepräzipitin. Dieser Einwand trifft natürlich nicht zu, da im angeführten Falle das Antitoxin nachweisbar bleibt, während im Versuche von Doerr und Moldovan das Präzipitinogen bei der vitro-Reaktion seine Eigenschaft als Sensibilisinogen verliert, womit eben der Identitätsbeweis erbracht ist. — Ueber die Identität der Antikörper, Präzipitine, Lysine, und anaphylaktischen Reaktionskörper kann man begreiflicherweise schwerer ins klare kommen, da uns zum Erkennen derselben immer nur je eine Reaktion zur Disposition steht und der Vergleich der verschiedenen Eiweißantikörperreaktionen naturgemäß Inkongruenzen ergeben muß, da es sich teils um vitro-Vorgänge in verschiedenen Milieus und mit verschiedenen Testobjekten, teils um Tierexperimente handelt. Um so mehr sollte hier die sichergestellte Identität des Antigens und der von Doerr, Ruß und Moldovan an so vielen Eiweißantiseris geführte Nachweis des quantitativen Parallelismus berücksichtigt werden, weniger aber einzelne Ausnahmsfälle, wie von Haendel, wo sich kleine Inkongruenzen, wie bei Auswertungen überhaupt häufig, ergeben. Die Behauptung, daß Meerschweinchen aktiv anaphylaktisch gemacht werden können, ohne Präzipitine im Blute zu haben, beweist nichts, da aktive Immunität auch anderwärts ohne zirkulierende Antikörper im Serum bekannt ist. Wenn aber gesagt wurde, daß Meerschweinchen zwar anaphylaktische aber keine präzipitierenden Antistoffe bilden, so sei Ref. durch H. Friedberger autorisiert mitzuteilen, daß nach Burckhardt Meerschweinchen schon nach einmaliger Injektion Präzipitine bilden, daß sich ihre Menge genau wie beim Kaninchen durch wiederholte Injektionen steigern läßt und mit dem Gehalt an anaphylaktischen Reaktionskörper parallel geht. — Endlich das Komplement betreffend, sei seine Bedeutung für die Bildung des Giftes durch den Komplementschwund im Shock, durch die Salzversuche und die Eigentümlichkeiten der passiven Vogelanaphylaxie, ferner durch die vitro-Darstellung des anaphylaktischen Giftes durch Friedberger und Friedemann bewiesen. Die Experimente von Tsuru, der die Konstanz des Komplementschwundes im anaphylaktischen Shock leugnet und sein Vorkommen bei



normalen Tieren nach Normalserum behauptet, halten nach Sleeswijk und Doerr weder in technischer noch sachlicher Beziehung einer Kritik stand, so daß sie gegenüber den zahllosen, gleichsinnig positiven Ergebnissen aller anderen Autoren als bedeutungslos anzusehen sind. — Die Dyspnoe und Lungenblähung, welche Auer und Lewis beim Meerschweinchen gefunden, wird von Biedl und Kraus als einzig zuverlässiges Kriterium der Anaphylaxie bei diesem Tiere angeführt. Das ist insofern merkwürdig, als alle bisher gewonnenen Resultate ohne dasselbe erzielt wurden; nach des Ref. Erfahrungen ist es auch weder bei sicherer aktiver noch passiver Anaphylaxie konstant. Der akute Tod bildet einen hinreichend zuverlässigen Indikator. Inkonsequenterweise wollen Biedl und Kraus die nach Injektion von Präzipitinen und Zytotoxinen, welche gegen das Eiweiß des Versuchstieres gerichtet sind, auftretenden primären Erscheinungen nicht als Anaphylaxie anerkennen, während Ref. in seinem Referate hervorgehoben hatte, daß solche Tiere das Auer-Lewissche Phänomen gleichfalls darbieten und durch Atropin geschützt werden können.

Thies (Berlin): Weichardt und kürzlich auch in einer Anmerkung Friedemann haben darauf hingewiesen, daß die Eklampsie zum Symptomenkomplexe der Anaphylaxie gehören könne. Weichardt geht jedoch von ganz anderen Voraussetzungen aus, insofern als er annimmt, daß das durch Cytolyse der Syncytialzellen frei werdende Endotoxin Antitoxine erzeugt. Er stützt seine Ansicht auf Versuche mit menschlichen Plazenten, die Kaninchen injiziert wurden. Es kann hier im Tierversuch natürlich Anaphylaxie entstehen, aber diese Erscheinungen würden durch artfremdes Serum entstehen. In unseren Versuchen handelt es sich aber um Anaphylaxiesymptome, die durch artgleiches Serum entstanden sind, die erst eine Analogie zwischen Eklampsie mit Anaphylaxie gestatten. Zudem liegen unsere Versuche bereits etwa 2 Jahre zurück.

Sobernheim (Berlin): Unter praktischen Verhältnissen hat man neuerdings auch an größeren Tieren, Pferden und Rindern, anaphylaktische Erscheinungen beobachtet, und zwar bei der Simultanimpfung gegen Milzbrand. Mitteilungen aus Deutschland, Ungarn und Rumänien lehren, daß Tiere, welche eine erste Impfung gut überstanden haben, bei einer zweiten Schutzimpfung, etwa 1 Jahr später, mit schwerer Anaphylaxie reagieren können. Es handelt sich hierbei unzweifelhaft um den Ausdruck einer Serumanaphylaxie, bedingt durch die Einverleibung fremdartigen Serums. Eine Bakterienanaphylaxie spielt bei dem Zustandekommen dieser Symptome keine Rolle. Im Experiment (Meerschweinchen) läßt sich mit Milzbrandbakterien (Vollbakterien und Extrakten) Anaphylaxie nicht erzeugen. Auch Komplementbindung und Präzipitation versagen bei Milzbrand.

Differenz zwischen Komplementbindung und Präzipitation, wie sie Haendel für Antieiweißsera feststellte, wurde bei dem Tuberkuloseserum beobachtet. Vermutlich bewirken Hemmungsstoffe das Ausbleiben der Komplementfixation bei bestehender Präzipitation.

Loeffler (Greifswald): Die Mitteilungen des Herrn Kollegen Sobernheim haben mich sehr interessiert. Bei den überaus zahlreichen Reinjektionen mit Maul- und Klauenseuchelymphe bei Rindern, Schweinen und Pferden habe ich deutliche Anaphylaxie gegenüber dem filtrierbaren Virus nicht feststellen können. Wenn die Tiere mit größeren Dosen Lymphe 20, 30 und mehr ccm reinjiziert wurden, dann traten häufig Erscheinungen ein, die man als anaphylaktische hätte deuten können. Die Tiere waren sehr unruhig, pusteten, hatten Atemnot, bisweilen sogar die Erscheinungen eines beginnenden Lungenödems, und Temperaturen über 40°. Die Erscheinungen traten bald nach der intravenösen Injektion ein und hielten bisweilen 6, 8 Stunden und noch länger an. Ganz ähnliche Erscheinungen treten aber auch auf bei frischen Rindern, die mit größeren Dosen 20 und mehr ccm Schweineserum intravenös behandelt werden. Das Schweineserum ist in größeren Dosen giftig für Rinder. Da die Lymphe in der Regel von Schweinen gewonnen war, so hätte man annehmen können, daß die Erscheinungen nach einer Reinjektion größerer Lymphmengen, eine anaphylaktische Reaktion auf Schweineserum gewesen wäre. Da aber nach Reinjektionen von 5 und 10 ccm Lymphe die Erscheinungen nicht eintraten, sondern erst nach Reinjektionen von solchen Dosen, die an und für sich schon giftig waren, auch bei nicht vorbehandelten Tieren, so erscheint es mir sehr zweifelhaft, ob diese Reaktionen als anaphylaktische angesprochen werden können.

A. v. Wassermann (Berlin): Auf Grund der Ergebnisse der heutigen Verhandlung scheint von den für die Erklärung der Anaphylaxie gegebenen Hypothesen wohl

diejenige am wahrscheinlichsten, welche den Stoffen, die bei der Entwicklung der Anaphylaxie in Betracht kommen, Ambozeptornatur zuschreibt. Aber auch für diese Theorie fehlten bisher die experimentellen Beweise.

Es ist bisher nicht gelungen, die vermuteten Ambozeptoren in den Organen der sensibilisierten Tiere nachzuweisen. Wohl deshalb, weil man nicht die richtigen Organe untersucht hat. Schon vor ca. 11 Jahren konnte ich, sowie R. Pfeiffer für die bakteriziden Ambozeptoren den Nachweis erbringen, daß dieselben bei subkutaner und intravenöser Einverleibung des Antigens im Knochenmark gebildet werden. Ich habe nun meinen Mitarbeiter Leuchs veranlaßt, sämtliche Organe, darunter auch das Knochenmark von Tieren, welche mit Pferde- oder Rinderserum sensibilisiert worden waren, auf ihre Fähigkeit zu untersuchen, die Anaphylaxie passiv auf gesunde Tiere zu übertragen. Es wurde also von einer Reihe von Meerschweinchen oder Kaninchen, die eine einmalige Injektion von Pferde- oder Rinderserum erhalten hatten, täglich ein Tier durch Entbluten getötet und das Serum sowie Emulsionen der Organe dieses Tieres neuen, gesunden Meerschweinchen intraperitoneal injiziert und diese nach Ablauf von 3 × 24 Stunden durch intravenöse Injektion des entsprechenden Antigens auf passive Anaphylaxie geprüft. Es zeigte sich, daß es auf diese Weise in einzelnen Fällen gelingt, schon am 5.—6. Tag nach der sensibilisierenden Injektion, mit dem Knochenmark den anaphylaktischen Reaktionskörper passiv auf gesunde Tiere zu übertragen, also zu einer Zeit, zu welcher mit dem Serum dies noch nicht gelingt. Wartet man noch 1—2 Tage ab, so gelingt diese Uebertragung mit dem Knochenmark konstant. Da jedoch zu dieser Zeit der Reaktionskörper sich auch schon im Serum befindet und mit ihm übertragen werden kann, so müßte ausgeschlossen werden, daß bei dem Knochenmarksversuch die Anaphylaxie durch die in diesem Organ enthaltenen Serumreste bedingt sein könnte. Dies wurde dadurch bewerkstelligt, daß das Knochenmark mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen wurde und einem Tier das gewaschene Knochenmark, einem zweiten das Waschwasser injiziert wurde. Während ersteres bei der Reinjektion anaphylaktisch zugrunde ging, blieb letzteres gesund oder zeigte nur schwache vorübergehende Erscheinungen. Es muß also der anaphylaktische Reaktionskörper im Knochenmark gebildet werden. Dieser Befund spricht in Analogie zu dem oben über die bakteriziden Ambozeptoren Mitgeteilten dafür, daß es sich bei den anaphylaktischen Reaktionskörpern um Ambozeptoren handelt.

In analogem Sinne dürften weitere Versuche, die mein Schüler Onaka unter meiner Leitung bezüglich der Tuberkulinüberempfindlichkeit ausführte, zu deuten sein. Onaka konnte die äußerst interessanten Befunde Bails, daß die Tuberkulinüberempfindlichkeit nicht mit dem Serum, wohl aber mit den tuberkulösen Organen passiv auf gesunde Tiere zu übertragen sei, vollauf bestätigen und gleichzeitig feststellen, daß Lösungen dieser Organe mit Antiformin die gleiche Fähigkeit besitzen, während wässerige Extrakte unwirksam sind. Also auch hier finden wir, daß die betreffenden Stoffe fest mit den Zellen verbunden sind, d. h. in Zellen entstehen.

Außerdem: Kraus (Wien).

VII. Weber-Dresden macht einige Mitteilungen über die internationale Hygiene-Ausstellung Dresden 1911.



VIII. Reichenbach (Bonn):

Zur Theorie der Desinfektion.

Wenn man auf eine größere Anzahl von Bakterien oder Bakteriensporen irgendeine tötliche Schädlichkeit einwirken läßt, so sterben nicht die sämtlichen Individuen zu gleicher Zeit ab. Schon sehr bald nach Beginn der schädigenden Einwirkung tritt eine merkliche Verminderung der Anzahl ein, die Zeit aber, die vergeht bis sämtliche Individuen abgestorben sind, kann das hundertfache oder noch mehr betragen. Zahlenmäßig zuerst verfolgt ist dieses allmähliche Absterben von Paul und Krönig in ihrer bekannten Arbeit über die chemischen Grundlagen der Desinfektion. Paul und Krönig haben bekanntlich Milzbrandsporen, die an Granaten angetrocknet waren, als Desinfektionsobjekte benutzt, und in sehr exakter Weise das allmähliche Absterben unter dem Einfluß verschiedener Desinfektionsmittel studiert. Sie haben aber selbst sich jeder Vermutung über das Gesetz, nach dem dieses allmähliche Absterben stattfindet, enthalten.

Ich habe bereits vor längerer Zeit, sehr bald nach dem Erscheinen der Arbeit von Paul und Krönig, versucht, festzustellen, ob dem allmählichen Absterben der Bakterien ein bestimmtes zahlenmäßiges Gesetz zugrunde liegt, und daraufhin die Zahlen von Paul und Krönig berechnet. Es ließ sich nachweisen, daß die Zahlen annähernd einer Exponentialkurve folgen, daß hier also dasselbe Gesetz Geltung hat, das für bestimmte chemische Reaktionen, die sog. monomolekularen Reaktionen gilt. Später haben dann Madsen und Nyman ebenfalls die Paul und Krönigschen Zahlen berechnet und sind zu demselben Resultate gekommen. Sie haben dann auch eigene Versuche angestellt, ebenfalls mit demselben Resultat. Ferner hat Harriet Chick für eine Reihe von Desinfektionsmitteln in ihrer Einwirkung auf Milzbrandsporen ebenfalls dieses Gesetz bestätigen können, und in jüngster Zeit hat Paul für das Absterben von Staphylokokken unter dem Einfluß des Austrocknens ebenfalls eine derartige zahlenmäßige Beziehung konstatiert.

Das Gesetz der unimolekularen Reaktionen besagt folgendes: Diejenigen chemischen Umsetzungen, bei welchen nur eine Molekülgattung eine wesentliche Aenderung ihrer Konzentration erfährt, verlaufen so, daß in jedem Moment die umgesetzte Menge proportional ist der noch vorhandenen Menge. Eins der bekanntesten Beispiele ist die Inversion von Rohrzucker: die geht also so vor sich, daß im Beginn der Reaktion, wo die vorhandene Zuckermenge am größten ist, auch die in der Zeiteinheit invertierte Menge am größten ist; in dem Maße, in dem sich durch die Inversion die vorhandene Zuckermenge vermindert, nimmt auch die Umsetzungsgeschwindigkeit ab.

Genau so ist es bei der Abtötung der Sporen. Zuerst sterben in der Zeiteinheit die meisten Individuen ab, und in dem Maße, wie sich die Individuenzahl verringert, verringert sich auch die Zahl der in der



Zeiteinheit absterbenden Bakterien. Mathematisch können wir das folgendermaßen ausdrücken: Nennen wir a die zu Anfang des Versuches vorhandene Bakterienanzahl und x die in der Zeit t abgestorbene Anzahl, so wären also a—x die Ueberlebenden: es ist dann die in der unendlich kleinen Zeit dt absterbende Anzahl dx immer proportional der Anzahl der Ueberlebenden, also $= k(a-x)$. Die Gleichung lautet also $\frac{dx}{dt} = k(a-x)$. Die Konstante k pflegt man bei chemischen Vorgängen als Reaktionsgeschwindigkeitskonstante zu bezeichnen; dem analog können wir sie für das Absterben der Bakterien Absterbegeschwindigkeits- oder auch Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante nennen. Diese Konstante haben Madsen und Nyman, sowie Harriet Chick als Maß für die Desinfektionswirkung angesehen, und haben sie als Unterlage für weitere Rechnungen und Versuche benutzt.

In dieser Form läßt sich nun die Gleichung nicht experimentell nachprüfen, da dx und dt unendlich kleine Größen sind und für endliche Zeiten die Anzahl der Ueberlebenden nicht mehr konstant ist, da sie sich ja durch das Absterben fortwährend ändert. Gehen wir zu endlichen Größen über, was durch Integration der Gleichung geschieht, so erhalten wir

$$k = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{a}{a-x}$$

$$\text{oder } a-x = a \cdot e^{-kt}$$

und diese Formeln können uns zur experimentellen Nachprüfung des Gesetzes dienen.

Sind nun die beiden Vorgänge, deren zahlenmäßiger Verlauf sich hier als identisch erwiesen hat, auch in ihrem Wesen identisch, oder beruht das allmähliche Absterben auf der verschiedenen Resistenz der Bakterien, so daß es sich nur um eine zufällige äußere Uebereinstimmung handelt? Harriett Chick nimmt ohne weiteres das erstere an. Sie setzt einfach die Bakterien an Stelle der Moleküle und findet es deshalb ganz selbstverständlich, daß auch das Absterben der Bakterien dem Gesetze entspricht. Nyman und Madsen machen keine Versuche zur Erklärung, sie weisen aber auf die verschiedene Resistenz der Bakterien hin. Auch Paul und Krönig heben in ihrer ersten Arbeit die Verschiedenheit der Resistenz ausdrücklich hervor. Neuerdings hat aber Paul wenigstens für das Absterben durch Austrocknen, eine Darstellung des Reaktionsverlaufes gegeben, die ebenfalls eine theoretische Begründung des experimentell gefundenen Gesetzes geben soll.

Nun liegt es in der Tat sehr nahe, wenn man die außerordentliche Uebereinstimmung zwischen dem zahlenmäßigen Verlauf der beiden Vorgänge beobachtet, wirklich einen inneren Zusammenhang anzunehmen. Aber trotzdem kann es keinem Zweifel unterliegen, daß die beiden Vorgänge in ihrem Wesen prinzipiell durchaus verschieden sind. Bei der chemischen Reaktion befindet sich immer nur ein gewisser Bruchteil der Moleküle unter den zur Umsetzung geeigneten Bedingungen, und je größer die Zahl der vorhandenen Moleküle ist, desto größer ist auch die Zahl der zur Umsetzung geeigneten. Es folgt einfach aus der Wahrscheinlichkeitsrechnung, daß je mehr die Zahl der vorhandenen



Moleküle abnimmt, um so geringer auch die Zahl der zur Umsetzung geeigneten wird. Aber bei den Bakterien liegt doch die Sache ganz anders. Sämtliche Bakterien befinden sich vom Beginn des Versuches an, wenn der Versuch richtig ausgeführt wird, unter genau gleichen Bedingungen, auf alle wirkt die Schädigung in genau demselben Maße ein. Es ist also gar kein Grund vorhanden, warum, wenn alle Individuen von gleicher Resistenz wären, das eine Individuum früher absterben sollte, als das andere. Harriett Chick scheint sich die Sache so vorzustellen, daß die Bakterien durch irgendwelche Umstände nicht sämtlich gleichzeitig zur Aufnahme des Desinfektionsmittels befähigt sind, daß sie erst nach und nach, und zwar nicht infolge ihrer inneren Eigenschaften, sondern ebenfalls einfach nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeitsrechnung in den Zustand geraten, der sie für die Aufnahme des Desinfektionsmittels disponiert. Man könnte da an die Zusammenstöße mit den Molekülen des Desinfektionsmittels denken. Ich kann mir aber nicht vorstellen, daß bei dem ungeheuren Größenunterschiede zwischen Bakterien und Molekülen nicht jedes Bakterium, auch in sehr verdünnten Desinfektionslösungen, dauernd mit der gleichen Anzahl von Molekülen in Berührung sein soll. Aber immerhin wäre bei der Einwirkung von Desinfektionslösungen noch am ehesten das Feld für derartige mystische Anschauungen vorhanden. Ganz unbedingt aber sind die Bakterien unter denselben Bedingungen, wenn man als schädigendes Mittel die Hitze anwendet. Wenn auch da dasselbe zahlenmäßige Verhalten eintrifft, so kann das nur auf der verschiedenen Resistenz der Bakterien beruhen. Zwei solche Versuche sind schon von Madsen und Nyman angestellt, die an trocknen Milzbrandsporen die Einwirkung der Hitze studiert haben. Auch bei diesen Versuchen trat das Gesetz deutlich hervor, die Verfasser haben aber daraus keine Schlußfolgerungen gezogen.

Noch schlagender aber wäre der Beweis, wenn auch bei der Erhitzung von Bakteriensuspensionen dasselbe Gesetz hervorträte. Denn bei der Verwendung von Granaten liegt die Sache insofern komplizierter, als da ja nicht die gesamte, an den Granaten haftende Bakterienmenge zur Aussaat kommt, sondern nur ein gewisser, durch das Schütteln abgesprengter, bei richtigem Verfahren allerdings konstanter Bruchteil. Es wäre nun nicht unmöglich, daß durch die trockne Erhitzung und die dadurch herbeigeführte scharfe Austrocknung, dieser Bruchteil verändert würde. Erhitzt man aber eine Suspension, so ist schlechterdings nicht einzusehen, warum einzelne Bakterien sich anders verhalten sollten, wie die anderen, vorausgesetzt, daß durch ständiges Rühren dafür gesorgt wird, daß die Temperatur der Suspension in allen Teilen dieselbe ist. Derartige Versuche mit Suspensionen habe ich nun angestellt, und das Gesetz durchaus bestätigt gefunden.

Ich zeige ihnen hier die Kurven zweier Versuche, mit Milzbrandsporen, von denen einer bei 87°, der andere mit Sublimat angestellt wurde. Sie sehen, daß bei beiden der Wert für k nur wenig schwankt, und daß die gefundenen Zahlen der Ueberlebenden mit den berechneten durchaus zufriedenstellend übereinstimmen.

Es geht aus diesen Versuchen unzweifelhaft hervor, daß eine größere Anzahl von Milzbrandsporen ihrer Widerstandsfähigkeit nach derartig aufgebaut ist, daß



die am wenigsten widerstandsfähigen am zahlreichsten, und die resistentesten am wenigsten zahlreich sind, und daß die Anordnung nach der Widerstandsfähigkeit einem Exponentialgesetz folgt. Dadurch erklärt sich, daß die Absterbekurve genau gleich verläuft, welche Art von Schädigung wir auch anwenden, ob wir Sublimatlösung auf trockne Bakterien einwirken lassen, wie es Paul und Krönig getan haben, oder auf suspendierte, wie in meinen Versuchen, oder ob wir starke Phenollösungen verwenden, wie Harriett Chick es gemacht hat, oder ob wir schließlich Hitze, sei es in trockenem oder feuchtem Zustande benutzen, oder ob wir schließlich die Bakterien dem natürlichen Tode durch Austrocknen überlassen: immer gilt dasselbe Gesetz.

Selbstverständlich ist es auch ganz ausgeschlossen, daß dieselbe Absterbekurve das eine Mal durch die verschiedene Resistenz der Bakterien und das andere Mal durch einen inneren, in der Art des Schädigungsprozesses liegenden Vorgang verursacht werden solle. Denn die verschiedene Resistenz in ihrer gesetzmäßigen Anordnung ist natürlich bei jedem Versuch vorhanden und müßte, wenn andere innere, in der Natur der Reaktion gelegene Gründe, das allmähliche Absterben der Bakterien bedingten, eine Störung des Verlaufes der Kurve verursachen. Es hat mich deshalb auch sehr überrascht, daß Paul, der in seiner ersten Arbeit die verschiedene Resistenz der Bakterien zugibt, jetzt rein theoretisch die Formel der monomolekularen Reaktionen gerade für das Absterben der Bakterien durch Austrocknen a priori ableiten will; denn eine solche Ableitung könnte natürlich nur dann gelten, wenn alle Bakteriensporen von gleicher Widerstandsfähigkeit wären. Ich kann aber auch in der Ableitung der Formel zu meinem Bedauern Paul nicht folgen.

Läßt sich nun dieses eigentümliche Absterbegesetz der Sporen, diese eigentümliche zahlenmäßige Abstufung der Resistenz, erklären? Vielleicht kann folgendes zur Erklärung dienen. Wir müssen uns daran erinnern, daß ja auch das Entstehen einer bestimmten Bakterienmenge nach einem Exponentialgesetz erfolgt. Bezeichnen wir mit a die Menge der Aussaat, so haben wir, wenn die Zeit der ersten Generation verstrichen ist, die Anzahl $a \cdot 2$, nach der zweiten Generation die Zahl $a \cdot 2^2$, nach der dritten Generation $a \cdot 2^3$ usw. Natürlich geht die Vermehrung nicht so streng mathematisch vor sich, sondern es werden von jeder Generation einzelne Individuen zurückbleiben, die sich nicht weiter teilen, und von einer bestimmten Generation ab werden bei sporenbildenden Bakterien einzelne Individuen zur Sporulation gelangen. Wenn wir dann annehmen, daß dieser Bruchteil annähernd konstant ist, so haben wir in der fertigen Kultur eine Anzahl von Sporen, deren Altersaufbau ebenfalls einer Exponentialkurve folgt. Wir müssen dann ferner die Annahme machen, daß die Sporen um so widerstandsfähiger sind, je jünger die Generation ist, von der sie gebildet werden, und diese Annahme hat viel für sich, wenn man bedenkt, daß bei den jüngeren Generationen der Nährboden noch am besten und die Lebenskraft der Kulturen noch am größten ist. Auf diese Weise scheint mir eine Erklärung des Aufbaues einer Sporenmenge möglich zu sein. Ich möchte aber besonders betonen, daß nicht das absolute Alter der Sporen,



sondern das Generationsalter, d. h. das Alter derjenigen Generation, von der die Sporen stammen, in Frage kommt. Das ist auch der Grund dafür, daß das absolute Alter der Kultur für den Verlauf der Absterbekurve ziemlich gleichgültig ist.

Von großer Bedeutung ist nun die Frage, ob wir es hier mit einem für alle Sporenarten gültigen Gesetz zu tun haben, oder ob es nur die Milzbrandsporen sind, die diesen eigentümlichen Aufbau zeigen. Von anderer Seite sind bislang ausschließlich Milzbrandsporen benutzt worden. Ich habe nun eine Anzahl Versuche mit einem saprophytischen Sporenbildner angestellt, der sich durch ganz besonders rasche und vollständige Sporenbildung auszeichnet. Bei diesem stimmt die Sache nun nicht. Von einer konstanten Reaktionsgeschwindigkeit kann absolut nicht die Rede sein; die Kurve hat auch nicht die entfernteste Aehnlichkeit mit einer Exponentialkurve. Die sämtlichen Versuche, die ich mit diesem Sporenbildner angestellt habe, und zwar sowohl Sublimat- wie Hitzeversuche, sind derart verlaufen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit nach dem Ende des Versuches hin erheblich zunahm, das Absterben also viel schneller vor sich geht, als man nach den anfänglichen Zahlen erwarten sollte.

Auch dieses abweichende Verhalten des Sporenbildners wäre kaum zu erklären, wenn es sich um eine Reaktion im physikalisch-chemischen Sinne handelte. Vielleicht hängt es aber mit der außerordentlich raschen Sporenbildung der Kultur zusammen, dadurch wird die Bildung der Sporen auf wenige Generationen beschränkt, und die Zahl der Abstufungen der Resistenz geringer.

Wie sich vegetative Formen verhalten, darüber habe ich selbst noch keine Erfahrung. Nach einigen Versuchen von Paul scheinen Staphylokokken, an Granaten angetrocknet ebenfalls dem Gesetze zu folgen, während Bouillonkulturen von Paratyphusbazillen nach Harriett Chick einen ganz anderen Verlauf der Kurve ergeben. Bei diesen nimmt die Konstante mit dem Fortschreiten des Versuches dauernd ab, es sind also eine größere Anzahl von Widerstandsfähigkeitsstufen vorhanden, als bei den Sporen. Auch das ließe sich mit der eben gegebenen Theorie in Einklang bringen.

Fragen wir uns nun zum Schluß, welche praktische Bedeutung wir dem sich so ergebenden Begriff der Desinfektionsgeschwindigkeit zuerkennen können, so glaube ich nicht, daß die weitgehenden Hoffnungen, die man auf die Verwertung dieses Begriffs gesetzt hat, sich verwirklichen werden. Sicher nicht richtig ist es, wenn Madsen und Nyman annehmen, daß sich die Konstante benutzen ließe, um einen zahlenmäßigen Begriff von der mittleren Resistenz der Sporen zu geben. Denn, wenn es wirklich so wäre, wie sie annehmen, daß der größere Teil einer Sporenmenge eine gewisse mittlere Resistenz aufwiese, um welche die Resistenz der anderen Sporen sich gruppiert, so könnte die Absterbekurve niemals eine Exponentialkurve sein, sie müßte dann zunächst langsam, dann rasch, dann wieder langsam fallen, also mit anderen Worten in der Mitte einen Wendepunkt besitzen.

Eher ist es schon möglich die Konstante k als Maßstab für die Desinfektionskraft eines Mittels zu benutzen, besonders, wenn es sich um theoretische Untersuchungen handelt. In dieser Beziehung ist es sehr interessant, daß, wie Madsen und Nyman konstatiert haben, die



Zunahme der Desinfektionskraft mit der Temperatur demselben Gesetz folgt, wie es von Arrhenius für die Beschleunigung des Ablaufes chemischer Reaktionen durch die Temperatur aufgestellt ist. Für die praktische Beurteilung der Desinfektionsmittel ist allerdings die Bestimmung der Konstante der Desinfektionsgeschwindigkeit in den meisten Fällen zu umständlich und auch deshalb wenig brauchbar, weil sie keine unmittelbare Anschauung von der Wirksamkeit des Desinfektionsmittels gibt. Hierfür ist meiner Meinung nach der von Rideal eingeführte Karbolsäuremaßstab trotz seiner Mängel immer noch vorzuziehen. Aber auch bei theoretischer Verwertung wird man sich immer dessen bewußt bleiben müssen, daß die sogenannte Konstante der Desinfektionsgeschwindigkeit mit der Konstante im physikalisch-chemischen Sinne nichts zu tun hat, und nur dann überhaupt existiert, wenn der entsprechende Aufbau der Sporenmenge vorhanden ist.

Aber noch in einer anderen Richtung mahnen uns diese Resultate zur Vorsicht. Wir haben gesehen, daß zwei Vorgänge, nämlich der Verlauf der unimolekularen Reaktionen und das Absterben von Milzbrandsporen sich genau derselben mathematischen Formel anpassen, ohne daß sie prinzipiell irgend etwas miteinander zu tun haben, es ist eine rein äußerliche Uebereinstimmung, die das Wesen der Vorgänge nicht berührt. Ich glaube, meine Herrn, es ist nicht überflüssig, heute, wo entschieden die Neigung besteht, komplizierte biologische Phänomene mit Vorgängen in der nicht organisierten Materie zu identifizieren, durch ein solches klares Beispiel zu belegen, daß die mathematische Uebereinstimmung im Ablauf zweier Prozesse noch nichts für die Gleichheit der inneren Vorgänge beweist.

IX. Lentz (Berlin):

Vorschlag einer einfachen Bezeichnung des Wertes von spezifischen Serumreaktionen.

Meine Herren! Seit mehr als 10 Jahren bedienen sich die Bakteriologen allgemein der Serumreaktionen zur Differenzierung von Bakterien; doch scheint es bis heute noch nicht Allgemeingut der Bakteriologen geworden zu sein, daß die bei solchen diagnostischen Untersuchungen gefundenen Werte nur relativen Wert besitzen, d. h. erst dann einen exakten Schluß zu ziehen erlauben, wenn sie in Beziehung gesetzt werden zu dem Titer des zur Diagnosenstellung benutzten Testserums. So besagt z. B. die Mitteilung, daß eine verdächtige Bakterienart von einem spezifischen Serum bis zur Serumverdünnung 1 : 4000 agglutiniert wird, an sich gar nichts. Erst wenn dazu gesagt wird, daß der Titer des Testserums beispielsweise 1 : 5000 oder 1 : 50000 beträgt, kann der Leser für sich den Schluß ziehen, daß im ersteren Falle der ge-



prüfte Bakterienstamm mit der zur Herstellung des Testserums benutzten Bakterienart wahrscheinlich identisch ist, im letzteren Falle dagegen eine solche Indentität zum wenigsten sehr zweifelhaft ist. Es ist deshalb notwendig, daß in bakteriologischen Arbeiten stets Beziehung zwischen gefundenen diagnostischen Werten und dem Titer des Testserums in jedem einzelnen Falle klar zum Ausdruck gebracht wird. Leider unterbleibt dies aber noch sehr häufig. Um es in einfacher Weise zu bewirken, schlage ich vor, diese Beziehung in Form eines Bruches auszudrücken, in welchem der Zähler den gefundenen Wert, der Nenner den Wert des Testserums enthält. In unseren oben gewählten Beispielen würde es dann heißen müssen: der gefundene Bakterienstamm wurde von meinem Testserum bis $\frac{1:4000}{1:5000}$ bzw. bis $\frac{1:4000}{1:50000}$ agglutiniert.

Auch für andere Serumreaktionen ist diese Form der Bezeichnung anwendbar. Für den Pfeifferschen Versuch würde die noch in einer Serumverdünnung von 0,001 bei einem Titer des Testserums von 0,0005 erfolgte Auflösung einer Bakterienart sich durch den Bruch $\frac{0{,}001}{0{,}0005}$ ausdrücken lassen. Die allgemeine Annahme dieser Ausdrucksweise würde m. E. sowohl der Prägnanz der Darstellung wie auch der Uebersichtlichkeit der Untersuchungsergebnisse in unseren Arbeiten zugute kommen.

Diskussion:

Löffler (Greifswald) stimmt dem Vorschlag zu und empfiehlt ihn allgemeiner Beachtung.

X. L. Heim (Erlangen):

Schutzstoffe aus Organen.

Vor 1½ Jahren habe ich in der Münchener med. Wochenschr. 1909 Nr. 1 über die Möglichkeit berichtet, daß die Schutzstoffe aus Organen, insbesondere aus Muskeln von Kaninchen, die gegen Pneumokokken immunisiert worden waren, in wässerige Lösung übergeführt werden können, während einfache Aufschwemmungen derselben Organe wirkungslos waren. Die Muskeln wurden der bakteriellen anaerobiotischen Fermentation unterworfen; es machte dabei keinen Unterschied, ob man diese von selbst eintreten ließ oder durch Impfung der Flüssigkeit mit Reinkulturen oder einem Bakteriengemisch, das sich bereits als wirksam gezeigt hatte, herbeiführte. In jedem Falle handelte es sich um stinkende Eiweißfäulnis, bei der in erster Linie *Bac. putrificus* kam, dann stecknadelförmige Bazillen, das sind solche von der Gestalt der Tetanusbazillen, unter denen Herr K. Würcker in meinem Institute einen isoliert hat, den wir *Bac. postumus* nannten, weil er immer erst nach



dem *Bac. putrificus* in dem von ihm geschaffenen Abbauprodukten gedieh; erst nachher und relativ spät kamen Aerobier, zwar fanden sich vereinzelte Nester aerober Sporenbildner sowie Kokken bald ein, aber eine reichlichere Vermehrung setzte erst ein, wenn der Fermentationsvorgang vorgeschritten war.

Die Muskeln stammten in jedem Falle von entbluteten Tieren. Sie wurden entweder mit der hydraulischen Presse behandelt und Preßsaft und -Rückstand getrennt entfettet und getrocknet, oder aber, nachdem sich ergeben hatte, daß in beiden Fällen Schutzstoffe vorhanden waren, unausgepreßt. Hier blieb jedoch der Einwand, daß eine allenfallsige Wirkung der fermentierten Aufschwemmung durch die in den Muskeln zurückgebliebenen Blutreste vorgetäuscht sein könnte. Dagegen ist in Betracht zu ziehen, daß die getrockneten Muskeln, die ungefähr den 4. Teil der frischen darstellen, mit der zehnfachen Menge Wasser aufgeschwemmt wurden; ferner daß die Organe des entbluteten Tieres kaum mehr als die Hälfte des ursprünglich vorhandenen Blutes enthielten, endlich daß von den fermentierten Aufschwemmungen höchstens sechsmal größere Mengen zur Verwendung kamen als der niedersten rettenden Dosis des Serum desselben Tieres entsprach, andere Male aber die Aufschwemmung schon in der gleichen oder nur wenig höheren Dosis wirksam war wie das Serum. Folglich mußte man zu dem Schlusse kommen, daß quantitativ viel zu wenig Blutserum in den Aufschwemmungen vorhanden war, als daß eine Wirkung hätte zutage treten können.

Dieses rechnerische Ergebnis steht nun im Gegensatz zu meinen nachher gewonnenen Ergebnissen, daß die durch Auswaschen vom Blute vollkommen befreiten, sonst ebenso behandelten Muskeln nach der Fermentation (es wurde hier meist Pepsin und Pankreatin genommen), von einigen schwachen Andeutungen abgesehen, keine Schutzwirkung mehr zu erkennen gaben. Man darf annehmen, daß bei der reichlichen Durchspülung, wie sie gemacht wurde, mit 6 und mehr Litern physiologischer Kochsalzlösung aus den Muskeln Schutzstoffe nach und nach an die durchströmende Flüssigkeit abgegeben werden. Einige Male wurde die gesammelte Spülflüssigkeit teils unmittelbar, teils nach Einengung im Verdampfungsapparat untersucht und im ersteren Falle Andeutung von Schutzwirkung, im letzteren Falle lebensrettende Wirkung erzielt, nachdem das Pulver mit der 10fachen Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon 0,3 ccm der Maus einverleibt worden war. Eine Menge von 0,5 ccm dagegen rettete nicht, ebensowenig eine Fermentation, die 10 Tage mit Pepsin und 16 Tage mit Pankreatin durchgeführt worden war; die gleiche Verdauung der Aufschwemmung der ausgespülten und getrockneten Muskeln, zu 0,2 ccm gegeben, zog den Tod der Maus um $2^1/_2$ Tage gegenüber der Kontrolle hinaus; in anderen Versuchen war aber auch diese Wirkung nicht vorhanden.

Die Fermentation mit Pepsin und Pankreatin wurde angewendet, weil die gefaulten Organe infolge ihrer Giftigkeit, die beim Eindampfen und bei längerer Aufbewahrung zunahm, bei den Mäusen manchmal üble Folgen hatte, in der Mehrzahl der Fälle wurden aber selbst relativ hohe Dosen, 0,5 ccm und mehr vertragen. Mehr nebensächlicher Natur war der üble Geruch. Solange auch die Fermentationen mit den Verdauungsenzymen bei Muskeln durchgeführt wurden, niemals ist auch nur



ein annähernd so guter Erfolg erzielt worden als mit der bakteriellen; dabei sind Einwirkungszeiten und Dosen mannigfach geändert worden, so daß die Untersuchungen viele Monate in Anspruch nahmen. Während bakterielle Fermentationen manchmal schon in 4—6 Tagen, in anderen Fällen in 11, 14 und 21 Tagen Erfolge aufwiesen, je nach der Entwicklung der Bakterien, die man nicht sicher zu leiten vermag, schien bei der Verwendung von Pepsin und Pankreatin eine 10 tägige Wirkung des ersteren in saurer und eine 16 tägige von Pankreatin in schwach alkalischer Flüssigkeit noch am ersten zum Ziele zu führen, aber durchaus nicht sicher, und ich möchte diesen Angaben kaum mehr als Annäherungswert beimessen.

So waren denn schließlich die Aussichten, aus den durchgespülten Organen immunisierter Tiere wirksame Präparate zu bekommen, bedeutend gesunken, am besten hatten sich die nicht durchspülten, namentlich die unter hydraulischem Druck von etwa 300 Atmosphären ausgepreßten Muskeln bewährt.

Es war nun noch zu ermitteln, ob nicht andere Organe eine Ausbeute gewinnen ließen. Bei den kleinen Tieren, den Kaninchen, schrumpfen die Organe im getrockneten Zustande auf wenig Gramm Pulver zusammen, so daß sich damit nicht viele Versuche anstellen lassen. Am ausgiebigsten mußte sich natürlich die Leber erweisen, sie lieferte ungefähr 10 g Trockensubstanz. Dieses Organ zu nehmen, lag auch auf Grund der Erfahrungen der Immunitätsforschung nahe. Im ganzen sind bisher 4 Lebern verarbeitet worden, von denen sich zwei als wirksam, eine als schwach, eine als unwirksam zeigte. Zumeist habe ich hier die Pepsin-Pankreatinverdauung angewendet, teils in hohen, teils in niedrigeren Dosen, auf 1 g Trockensubstanz in zehnfacher Aufschwemmung nicht weniger als 0,1, verschiedentlich 0,4—0,5 g Pepsin bzw. Pankreatin. Mit letzterer Dosis hatte man zwar wiederholt Erfolg, aber die Pankreatinwirkung machte sich dabei in doppelter Weise störend geltend, einerseits bekamen die Mäuse bald nach der Einspritzung von 0,3 ccm der Aufschwemmung größere Hautdefekte, andererseits wirkten die Fermente auch im Filtrat zu sehr nach und ließen die Schutzwirkung in verhältnismäßig kurzer Zeit wieder verschwinden. Schließlich greifen die Fermente eben auch die Schutzstoffe an. Schon beim einfachen Lagern der Muskel- und Organpulver verschwinden sie im Laufe der Zeit allmählich wohl infolge von Umsetzungen, die sich unter Begünstigung durch den wechselnden relativen Feuchtigkeitsgehalt der Luft vollziehen.

Kaninchen 34, dessen Immunitätsgrad gering war, da sein Serum zu 0,3 nicht ganz sicher, sicher aber in der Dosis von 0,4 ccm rettete, wurde nach der Entblutung mit mehreren Litern physiologischer Kochsalzlösung durchspült, dann seine Leber noch eigens mit einigen Litern; hierauf wurden die Muskeln in der hydraulischen Presse vom überschüssigen Wasser befreit, dann ebenso wie die Leber, die fein zerschnitten war, im Verdampfungsapparat [1]) getrocknet und 8 Tage in

[1]) Der von der Firma F. u. M. Lautenschläger in Berlin hergestellte Verdampfungsapparat nach Faust-Heim bezweckt, empfindliche Substanzen einzuengen und zu trocknen ohne Verwendung eines Vakuums. Mittels eines elektrisch getriebenen



der Kugelmühle zerkleinert. Das nicht entfettete Pulver wurde zu 3 g in 30 g Wasser aufgeschwemmt, 10 Tage mit 0,7 g Pepsin behandelt (eine danach entnommene Probe war zu 0,3 ccm ganz wirkungslos) dann schwach alkalisch gemacht und 16 Tage mit 0,3 Pankreatin verdaut; 0,2 ccm rettete eine Maus, 5 Tage später zogen 0,3 ccm den Tod gegenüber der Kontrollmaus um die doppelte Zeit hinaus, nach 17 weiteren Tagen war die Wirkung verschwunden. Von demselben Leberpulver wurden 3 g mit Azeton ausgeschüttelt, dann mit 26 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit einer Mischkultur von *Bac. putrificus* und *postumus* geimpft: nach 8 tägiger Fermentation rettete 0,3 ccm eine Maus; nach 21 tägiger Fermentation war die Aufschwemmung wirkungslos geworden.

Weiterhin wurde 1 g des Leberpulvers mit Azeton geschüttelt (es blieben 0,71 g), diese mit 10 ccm saurem Wasser und 0,2 g Pepsin 10 Tage fermentiert, dann in alkalischer Lösung noch 7 Tage mit 0,5 g Pankreatin. Da die Mäuse, die eine so konzentrierte Pankreatinlösung bekommen, mit Hautdefekt reagieren, wurde versucht, die Pankreatinlösung durch Ansäuerung der Flüssigkeit aufzuheben, was aber nicht gelang; obendrein war die angesäuerte Flüssigkeit jeder Schutzwirkung bar. Als aber die Flüssigkeit wieder alkalisch gemacht worden war, rettete sie in der Dosis von 0,3 ccm eine Maus. Genau das gleiche Ergebnis wurde mit der Leber eines anderen Kaninchens (36) erzielt, von dem das Serum zu 0,3 ccm wirksam war, aber nicht mehr zu 0,2 ccm. Daraus geht gleichzeitig hervor, daß die verdaute Leberaufschwemmung immer noch ebenso, ja bei Kaninchen 34 noch wirksamer war als das Serum des gleichen Tieres.

In ähnlicher Weise wurde die Leber des Kaninchens 38 verarbeitet; das Serum dieses Tieres rettete in der Dosis von 0,3 ccm und schob den tödlichen Ausgang der Infektion bei 0,2 ccm noch hinaus. Von der mit Pepsin und Pankreatin behandelten Leberaufschwemmung hatten 0,3 ccm nach Ansäuerung keine Wirkung, nach Wiederherstellung der Alkaleszenz schob 0,3 den Tod auf 88 Stunden hinaus (die Kontrollmaus starb in 30 Stunden). 3 Wochen später waren die Filtrate der drei fermentierten Leberaufschwemmungen wirkungslos geworden.

Ein vorläufiger Versuch, mit Leber des Kaninchens 39, dessen Serum wirksamer war und in der Gabe von 0,1 ccm rettete, verlief ohne Ergebnis; die Verdauung mit 0,2 g Pepsin und 0,2 g Pankreatin hatte in der Dosis von 0,3 keine Wirkung, während eine ebenso angesetzte Probe mit der Leber von Kaninchen 36 auch diesmal wieder in der gleichen Dosis rettete.

Die Aufschwemmungen von durchgespülten Lebern haben sich also

Ventilators wird Luft, die bei ihrem Durchgang durch ein Rohr vorgewärmt werden kann, in einen Kasten getrieben, der wie ein Brutschrank durch einen Wassermantel beliebig hoch erwärmt werden kann. Der Innenraum ist für die Aufstellung von vier Schalen der Größe 19×25 cm ausreichend. Mittels Verteilungsvorrichtung wird der Luftstrom zu jeder einzelnen geleitet. Da die Luft durch Watte filtriert wird, ist sie auch ohne Vorwärmung fast keimfrei. Bei 20° bringt man in der Stunde etwa 100 g Wasser zur Verdampfung, bei gesteigerter Wärme natürlich mehr. Man kann z. B. den Ventilator über Nacht gehen lassen und hat dann bei Zimmerwärme 1 l Wasser weggebracht.



im ganzen wirksamer erwiesen als die von solchen Muskeln. Mit Sicherheit hat man das Ergebnis nicht in der Hand, weil bei der Fermentation verschiedene unkontrollierbare Faktoren mitspielen, aber die wiederholten günstigen Erfolge können nicht auf Zufall beruhen. Aus den Lebern werden die Schutzstoffe, selbst mit 6 und mehr Litern Kochsalzlösung nicht so leicht ausgespült. Sicherlich ist die Ausspülung für den Nachweis von Schutzstoffen nicht förderlich, im Gegenteil, aber sie mußte gemacht werden wegen des Beweises, daß es sich bei diesen blutreichen Organen nicht ausschließlich um Serumwirkung handelt, wenn man in ihnen Schutzstoffe nachweist. Würde man in praktischer Hinsicht Lebern auf Schutzstoffe verarbeiten, würde man sie natürlich nicht ausspülen. Ferner ist die Leber der Fermentation mit Pepsin und Trypsin viel besser zugänglich als die Muskelsubstanz. Pepsin allein· hatte keine, Trypsin nach 9 Tagen nur andeutungsweise Wirkung. Das Pepsin war ein Pulver von Armour & Co., Hamburg, das Pankreatin von der Firma Rhenania in Aachen. Die Entwicklung von Bakterien ließ sich durch Zusatz einiger Tropfen erwärmten Thymols hintanhalten. Auch die Fermentation, die, wie erwähnt, einmal vergleichsweise angewendet wurde, hatte Erfolg. Zur Infektion wurde in den letzten Monaten stets eine 24stündige Bouillonkultur von Pneumokokken, angelegt aus Seidenfäden mit Herzblut irgendeiner Kontrollmaus, in der Verdünnung $1:10^6 \cdot 3{,}3$ genommen; der betreffende Stamm wirkte in dieser Gabe sicher tödlich, meist in 30—48 Stunden, desgleichen auch in Verdünnung $1:10^7$, ja $1:10^8 \cdot 3{,}3$ und mehr, dann aber nicht mehr ganz sicher.

Die Schwierigkeiten liegen darin, daß man keinen anderen Anhaltspunkt als den Tierversuch dafür hat, ob die Verdauung gewirkt hat oder nicht, bis dieser aber abgelaufen ist, sind die Präparate bereits wieder verändert. Wir haben neuerdings versucht, die Fermentwirkung durch ein Antipepsin-Antitrypsinserum zu beseitigen, die Ergebnisse stehen aber noch aus. Bei ungenügender Fermentation kann man, wie früher gezeigt, durch Erhöhung der Dosis noch Wirkung erzielen, aber von vornherein weiß man über Wirkungswert der Präparate auch vermutungsweise nichts, und wollte man jedes einzelne Präparat mit mehreren Mäusen austitrieren, so würde bei den zahlreichen Fehlschlägen, mit denen man zu rechnen hat, die Anzahl der Tiere zu einem für ein kleineres Institut mit beschränkten Mitteln und Hilfspersonal unerschwinglichen Maße gesteigert werden.

XI. Kraus und Fürst Amiradzibi (Wien):

Ueber den Mechanismus der Antitoxinwirkung bei der Heilung.

(Erscheint ausführlich in der Zeitschrift für Immunitätsforschung.)

(Zusammenfassung.)

Die Heilung der Blutkörperchen in vitro erfolgt in der Weise, daß Toxin aus dem Blutkörperchen in die antitoxinhaltige Außenflüssigkeit diffundiert und außerhalb der Zelle neutralisiert wird. Dieser Austritt der Toxine läßt sich auch an toten Membranen nachweisen. Diese Feststellung spricht dafür, daß der Mechanismus der Heilung mittels Antitoxin, wie hier an Blutkörperchen ermittelt werden konnte, für alle Körperzellen Geltung haben dürfte. Danach hätten wir uns die Heilung so vorzustellen, daß Toxin aus den Zellen in das außerhalb der Zelle befindliche Antitoxin diffundiert. Von der Möglichkeit der Diffusion (Löslichkeit der Toxine) aus der Zelle hängt zum großen Teil die Heilung ab.

Diskussion:

Weichardt (Erlangen): Das von mir als Diffusionsbeschleunigung im Jahre 1908 beschriebene, bis dahin noch nicht beobachtete Antigenantikörperbeeinflussungsphänomen beruht also, wie ich schon auseinandergesetzt habe, auf einer Aenderung des osmotischen Druckes und der Oberflächenspannung. Mit den Apparaten, welche nur den physikalischen Vorgang bei diesem Phänomen zu beobachten gestatten, zu denen auch das in jüngster Zeit angewendete Stalaktometer gehört, ist es außerordentlich schwierig, ja u. E. unmöglich, diese Erscheinung sicher zur Anschauung zu bringen, denn dieselbe ist eine ganz außerordentlich subtile.

Diese Schwierigkeit kann aber erheblich herabgemindert werden durch Einführung eines zweiten in der Oberflächenbildung begriffenen Systems, dessen Indikator dann deutlich von der gleichzeitig vor sich gehenden Antigenantikörperwirkung mit beeinflußt wird, so daß unser Phänomen nach Art einer chemischen Reaktion verläuft.

Sie sehen dort, am Fenster, eine Reihe von Cylindergläsern, in denen sich das Endresultat dieser zwei Vorgänge an der Aufhellung (Verschiebung des Phenolphtaleinumschlagspunktes) gegenüber den Kontrollen sehr deutlich, so daß die Wirkung sogar quantitativ austitriert werden kann, ersehen läßt. Zur Ausführung derartiger subtiler Reaktionen eignen sich gewöhnliche Pipetten nicht, sie gelingen nur mit überaus scharf dosierenden Ueberlaufpipetten und nach genauer Feststellung des Versuchsoptimums der einzelnen Antigene und Antikörper.



XII. **Liefmann** (Berlin):

Ueber Komplemente und den Horror antotoxicus.

Vortragender berichtet über gemeinsam mit M. Cohn angestellte Versuche, deren Ziel es war, mit Hilfe der von Ferrata angegebenen Komplementspaltung Näheres über die Natur des Komplementes zu erfahren.

I. Zunächst wurde die Hypothese Liebermanns und Noguchis — das Komplement sei eine Seifeneiweißverbindung — an den beiden Teilen des Komplements (Mittelstück und Endstück) geprüft. Außer Seife wurde auch Lezithin, Oelsäure, gelegentlich auch Cholestearin verwandt.

Resultat: 1. Das Endstück kann durch keines der genannten Lipoide — auch nicht durch eine Verbindung derselben mit verschiedenen Eiweißarten — ersetzt werden.

Versuchsanordnung: Blutkörperchen + Ambozeptor + Mittelstück — dann Lipoid (resp. Lipoid + Eiweiß).

2. Das Mittelstück kann von Seife, Oelsäure, Lezithin ersetzt werden, doch ist dies eine von der Komplementhämolyse abweichende Reaktion. Sie verläuft (besser) ohne Ambozeptor. Es handelt sich um von Liebermann, Dungern und Coca, Fritz Sachs und Friedemann beschriebene Phänomene, die man „Beschleunigungsphänomene" nennen kann. Sie stellen sich so dar: Blutkörperchen + Lipoid — dann Serum = sofortige Lyse. Statt Serum kann auch NaOH (F. Sachs), nach unseren Ermittlungen auch CaOH, auch „Serumalbumin" nicht Serumglobulin, verwandt werden.

Ohne dies Phänomen tritt bei Ersetzung des Mittelstücks durch Lipoide (resp. Lipoid + Eiweiß) keine Hämolyse ein.

Es ergibt sich also, kein Teil des Komplementes ist durch die genannten Lipoide ersetzbar. Die Hypothese Liebermanns und Noguchis ist bisher nicht annehmbar.

II. Weitere Untersuchungen betrafen das Studium der Beziehungen der 2 Komplementteile zueinander.

Brand hat angenommen, zuerst werde das Mittelstück von der ambozeptorbeladenen Blutzelle gebunden, dann bände das Mittelstück seinerseits das Endstück.

Wir fanden: Auch bei viel Ambozeptor (20—50 Einheiten) wird nur sehr wenig Mittelstück gebunden, bei wenig Ambozeptor — keine meßbare Menge.

Versuchsanordnung: Blutkörperchen (Hammel) + Ambozeptor (von Kaninchen 1—5 Einheiten) + Mittelstück — dann zentrifugieren. Resultat: Das Sediment löst sich mit Endstück nicht auf, der Abguß enthält das Mittelstück, ohne nachweisbare Schädigung. Man kommt bei



genauem Studium der Wirkung des Mittelstücks zu der Anschauung, daß nur eine minimale Spur von ihm gebunden (verbraucht) wird. Doch findet zweifellos eine Reaktion zwischen sensibilisierter Zelle und Mittelstück statt.

Auch bei Verwendung intakten (ungespaltenen) Komplementes zeigt sich — bei sorgfältigem Vorgehen, daß bei geringer Ambozeptordosis nur sehr wenig Komplement verschwindet. Man kann bei Anwendung von 0,1 Komplement und 1—2 Ambozeptoreinheiten eines hochwertigen Serums 8—9 ccm Blut auch bei fraktioniertem Zusatz von je 1 ccm, auflösen. Erst beim neunten Male war das Komplement erschöpft. Das ist um so bemerkenswerter, als man feststellen kann, daß sehr viel Komplement nicht für die Hämolyse sondern nach der Hämolyse verschwindet. Mit Komplementüberschuß aufgelöste Blutkörperchen binden noch nach der Hämolyse Komplement. So ergibt sich, daß auch die zur Auflösung der Blutzellen verbrauchte Menge intakten Komplementes sehr klein ist, geringer als die Einheit (für die gleiche Ambozeptormenge).

III. Interessant ist das Verhalten des Komplementes gegen das Cholestearin. Dieses inaktiviert nach Landsteiner Komplement. Diese Wirkung beruht auf einer Reaktion allein mit dem Mittelstück, während das Endstück ganz unangefochten bleibt. Man kann dies Verhalten zu einer Isolierung des Endstücks verwenden.

IV. Einige Versuche, die das mangelnde Vermögen gewisser Sera homologe Blutzellen zu lösen, betrafen, zeigten, daß diese Erscheinung einer Unwirksamkeit des Endstücks zuzuschreiben war, während das Mittelstück funktionierte. Dies kann die Ursache eines Horror autotoxicus sein. Aber auch heterologen Blutzellen gegenüber versagt manchmal ein Teil des Komplementes, während der andere wirksam ist.

Diskussion:

Landsteiner (Wien) hat in Gemeinschaft mit Dr. Rock Versuche über die Spaltung des Komplements bei gleichzeitiger Verwendung zweier verschiedenartiger Sera ausgeführt. Das angewendete Hammelblut + hämolytischem Immunkörper von Kaninchen wurde gut durch Meerschweinchenserum, sehr schlecht durch Kaninchenserum komplettiert. Bei den Versuchen mit gespaltenen Komplementen verhielt es sich so, daß der Abguß des Meerschweinchenserums + dem Sediment des Kaninchenserums komplettierte, nicht aber der Abguß des Kaninchenserums + dem Sediment des Meerschweinchenserums. Es kommt also, wie gegenüber einer neuen Arbeit von Skwirsky bemerkt sei, dem Abgusse (i. e. toxophoren Gruppe Ehrlichs) eine spezifische Art der Wirkung zu (vgl. die Versuche von Liefmann).

Es zeigt sich ferner beim aktivierenden Meerschweinchenserum, daß Ueberschüsse von Sediment die komplettierende Wirkung hemmen können, auch wenn die Sedimentlösung frisch bereitet wurde, und daß Zusätze der Spaltstriche (auch des Sedimentes) zu vollem Komplement die aktivierende Wirkung verstärken, was mit der gewöhnlich geäußerten Annahme über die Wirkungsart der Spaltstriche nicht ohne weiteres zu erklären ist. Wahrscheinlich handelt es sich bei diesen Vorgängen um Adsorptionen zwischen Kolloidstoffen.



XIII. Steffenhagen und Andrejew (Groß-Lichterfelde).

Ueber die Haltbarkeit von Mikroorganismen und Immunkörpern in Blutegeln.[1])

Den Anlaß zu den folgenden Untersuchungen, welche wir im Kaiserl. Gesundheitsamt auf Anregung von Geh. Rat Uhlenhuth angestellt haben, boten die Beobachtungen, welche Uhlenhuth gelegentlich seiner Arbeit über den biologischen Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten machte. — Uhlenhuth fand damals, daß rote Blutkörperchen in der Leibeshöhle von Blutegeln, welche am Unterarm eines Menschen angesetzt waren, auch $2^1/_2$ Monaten ihre Struktur nicht wesentlich verändert hatten. Es lag nahe, durch ähnliche Untersuchungen die Frage zu beantworten, ob und wie lange Krankheitserreger sich im Blutegelorganismus halten. Einen praktischen Zweck schienen solche Untersuchungen deshalb zu haben, weil Blutegel hier und da als Konservierungs- und Versandmittel für solche Krankheitserreger empfohlen werden, deren Kultur bisher nicht gelungen ist.

Der Blutegel ist vermöge der muskulösen Beschaffenheit des Schlundes und der beim Saugakt eintretenden wellenförmigen Bewegungen des ganzen Körpers imstande, das angesaugte Blut bis in die entferntesten Teile seines durch Einschnürungen und Blindsäcke erweiterten Verdauungskanals zu leiten und somit eine beträchtliche Menge Blut in sich aufzunehmen. Wird die Oeffnung der Mundhöhle mit Salz oder Essig betupft, dann erbricht der Wurm das Blut.

Man braucht also nur auf den Egel einen mechanischen Druck auszuüben oder eines der ebengenannten Hilfsmittel in Anwendung zu bringen, um für Untersuchungszwecke zu beliebiger Zeit eine beliebige Menge des angesaugten Blutes zu erhalten. Dabei kommt den Untersuchungen ein im Magendarmkanal befindlicher, das Fibrinferment des Blutes zerstörender Stoff — Herudin genannt — insofern zu Hilfe als das erbrochene Blut in ungeronnenem Zustand wieder zutage kommt.

Bei der Vorbereitung unserer Versuche wurde möglichst steril verfahren: Die aus der Apotheke bezogenen Tiere wurden zuerst in sterilem Wasser abgespült. Dann wurde festgestellt, ob sie etwa in ihrem Verdauungstraktus pathogene Mikroorganismen oder pathogene Stoffe enthielten. Dabei erwies sich der schleimige Inhalt des Verdauungskanals, wenn ein solcher nach Bestreuen der Tiere mit Salz überhaupt zutage gefördert wurde, bei Verimpfung auf weiße Mäuse in keinem Fall als pathogen. Zweimal konnte aus dem Magenschleim ein Kurzstäbchen in Reinkultur gewonnen werden, das bei Verwendung

[1]) Vorgetragen von Steffenhagen.



der für die Typhusdiagnose üblichen Nährböden die bakteriologischen Eigenschaften des *Bacterium coli* hatte. Blut erbrachen von den zahlreich verwendeten Blutegeln nur zwei. In einem Fall konnte dasselbe durch die biologische Methode als Rinder- oder Hammelblut erkannt werden, im anderen Fall gelang es nicht, vermittels der vorrätigen präzipitierenden Sera die Herkunft des Blutes festzustellen.

Die Anordnung der Versuche erfolgte in der Weise, daß die Blutegel direkt an kranke — mit dem zu untersuchenden Erreger behaftete Tiere, also an Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hühner oder an gesunde Meerschweinchen angesetzt wurden, denen einige Zeit vor Beginn des Versuchs Aufschwemmungen der betreffenden Bakterienart intrakardial eingespritzt waren. Die Blutegel wurden dem Saugakt möglichst lange überlassen. Auf diese Weise stand Untersuchungsmaterial meistens für lange Zeit und bei jeder Blutabnahme auch in ausreichender Menge zur Verfügung.

Die Untersuchung der den Blutegeln nach bestimmten Zeitabschnitten abgenommenen Blutproben erfolgte mikroskopisch, kulturell und meistens durch den Tierversuch.

Bei geeigneter Pflege der Tiere, häufiger Erneuerung des Wassers, Aufbewahrung an einem kühlen Ort waren dieselben viele Monate haltbar.

Das Ergebnis der bisher angestellten Versuche, ist zusammengefaßt folgendes:

Typhusbakterien waren bis zu 30 Tagen haltbar,

Paratyphus b-Bakterien bis zu 3 Monaten haltbar,

Schweineseuchebakterien bis zu 30 Tagen haltbar und für Meerschweinchen pathogen,

Milzbrandbazillen waren bis zu 14 Tagen haltbar,

Menschen-Tuberkelbazillen bis zu 28 Tagen haltbar,

Perlsuchtbazillen bis zu 60 Tagen nachweisbar und für Meerschweinchen pathogen,

Trypanosoma Lewisii war bis zu 5 Tagen haltbar,

Hühnerspirochäten hielten sich bis zu 3 Wochen, waren aber nur bis zu 9 Tagen pathogen.

Zu den Versuchen mit Typhusbakterien, Milzbrandbazillen und Trypanosomen ist zu bemerken, daß dieselben deshalb ein Ende fanden, weil die Blutegel nach den angegebenen Endterminen kein Blut mehr von sich gaben. Im andern Fall hätte sich vielleicht auch bei diesen Krankheitserregern eine länger dauernde Haltbarkeit bzw. Pathogenität der Bakterien ergeben.

Sowohl die Menschentuberkelbazillen als auch die Perlsuchtbazillen hatten nach ihrer Passage durch den Blutegelorganismus die ihnen eigentümlichen kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften bewahrt.

Eine andere Reihe von Versuchen betraf die Haltbarkeit von Immunkörpern im Blutegelorganismus. Die Egel wurden bei diesen Versuchen an Kaninchen angesetzt, welche hochwertige präzipitierende, agglutinierende und hämolytische Sera lieferten. Auch der Ausfall dieser Versuche schien einen praktischen Wert zu haben insofern, als bei nachweislicher Haltbarkeit z. B. der agglutinierenden



Stoffe der Blutegel unter Umständen als Transportmittel für ein zu untersuchendes Patientenserum in Betracht kommen kann.

Das den Blutegeln nach verschiedenen Zeitabschnitten abgenommene Blut wurde mit Wattebäuschchen aufgesaugt. Die letzteren wurden auszentrifugiert. In den Wattebäuschchen blieben dann die geformten Blutbestandteile, in der Kuppe des Zentrifugenglases das klare Serum. Das letztere wurde für die serologischen Untersuchungen verwendet.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen, welche jedesmal mit den nötigen die Spezifität der Reaktion beweisenden Kontrollen angestellt wurden, war folgendes:

Mit einem präzipitierenden Antimenschenserum, dessen Titer bei der Ansetzung des Blutegels nach der Uhlenhuthschen Auswertungsmethode 1 : 20000 betrug, konnte nach 30 Tage langem Aufenthalt im Blutegel eine Menschenserumverdünnung von 1 : 5000, nach 52 Tagen eine solche von 1 : 1000 nachgewiesen werden. Nach 80 Tagen war das Antiserum sowohl in der Präzipitin- als auch der Komplementbindungsreaktion unwirksam.

Ein hämolytisches Serum, welches beim Ansetzen des Blutegels in der Dosis von 0,001 komplett löste, vermochte nach 15 tägigem Verweilen im Egel nur mehr in der Dosis von 0,01 komplette Hämolyse herbeizuführen. Nach 35 Tagen machte 0,1 nur mehr starke Hämolyse, nach 60 Tagen 0,5 wenig Hämolyse. Ein anderes hämolytisches Serum mit dem Titer 0,000 75 löste nach 15 tägigem Verweilen im Blutegel in der Dosis von 0,001, nach 80 Tagen mit 0,0075 komplett.

Eine lange Haltbarkeit zeigte ein agglutinierendes Paratyphus b-Serum. Dasselbe hatte nach 78 Tage langem Verweilen im Blutegel ebenso wie das beim Ansetzen des Blutegels an das Kaninchen dem letzteren abgenommene Serum einen Titer von 1 : 10000.

Ein agglutinierendes Choleraserum bewahrte seinen Titer 40 Tage lang, ein Ruhrserum 50 Tage lang, ein Gärtnerserum bisher 65 Tage.

Der Umstand, daß Krankheitserreger verhältnismäßig lange ihre Form und Virulenz im Blutegel zu behalten vermögen, legte wie eingangs erwähnt, die Frage nach der Möglichkeit einer direkten Krankheitsübertragung von Tier auf Tier nahe. Der physiologische Prozeß beim Ansaugen des Egels spricht nicht gegen eine solche Möglichkeit. Denn der Blutegel treibt, nachdem er eine passende Ansatzstelle gefunden hat, einen Teil der Mundhöhle nach außen, wodurch eine runde, innig anhaftende Scheibe sich bildet, gegen die er nun zur intimeren Befestigung auch die nächsten Ringe schiebt. Damit ist also eine innige Verbindung des obersten Teiles des Verdauungsschlauches mit einer Wunde und unter Voraussetzung eines infektiösen Inhaltes in dem ersteren auch die Möglichkeit der Infektion des letzteren gegeben. Tatsächlich wird über einzelne Krankheitsübertragungen beim Menschen z. B. des malignen Oedems in der Literatur berichtet.

Die ad hoc angestellten Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß Blutegel an kranke Tiere angesetzt und dem Saugakt etwa 5 Minuten überlassen wurden. Dann wurde der letztere unterbrochen, die Blutegel wurden sofort an andere gesunde Tiere angesetzt, aber hier ebenfalls nach dem Anbeißen nur kurze Zeit am Tiere



gelassen, dann wurden sie abgenommen und am nächsten Tage nochmal an ein anderes gesundes Tier für kurze Zeit angesetzt, unter Umständen auch noch nach 2 und 3 Tagen in derselben Weise verwendet.

In der angegebenen Weise wurden Übertragungsversuche mit Tuberkel-, Milzbrand- Schweineseuchebazillen an Meerschweinchen, Dourine und Nagana an Ratten, Hühnerpocken und -Spirochäten an Hühnern, mit einem für Mäuse pathogenen Staphylokokkenstamm an Mäusen gemacht. Ich beschränke mich darauf, aus der großen Reihe von Versuchen nur die positiven Uebertragungsversuche zu erwähnen. Es gelang nämlich, je einmal mit Milzbrandbazillen, mit Hühnerspirochäten, mit Hühnerpocken, mit Nagana und mit Dourine bei sofortiger Ansetzung des Blutegels an das gesunde Tier die Krankheit zu übertragen. Die Übertragung ist dagegen bisher niemals gelungen, wenn die Blutegel erst nach 24 Stunden angesetzt wurden, und außerdem überhaupt nicht bei Tuberkel-, Schweineseuchebazillen und Staphylokokken.

Bemerkenswert an den positiven Erfolgen der Übertragung ist, daß dieselben nur Krankheitserreger oder Krankheitsstoffe mit hoher Virulenz betrafen. Von den Erregern der Nagana, Dourine, Hühnerspirillose, dem Virus der Hühnerpocken ist diese Eigenschaft bekannt; die Milzbrandbazillen waren durch mehrfache Meerschweinchenpassagen in ihrer Virulenz gesteigert, so daß $^1/_{100}$ Öse die Tiere in 24 Stunden tötete.

Der Erfolg einer Krankheitsübertragung von Tier auf Tier durch den Blutegel war also in unseren bisherigen Untersuchungen von einer hohen Virulenz des betreffenden Virus für das Versuchstier, ferner davon abhängig, daß der Blutegel **sofort** nach der Unterbrechung des Saugaktes bei dem kranken Tier an das gesunde angesetzt wurde. Es erscheint aber nicht ausgeschlossen, daß eine solche Übertragung hier und da auch nach Ablauf eines oder mehrerer Tage erfolgen kann.

Wir glauben aber aus unseren Versuchen schließen zu können, daß eine Krankheitsübertragung von kranken Menschen auf gesunde durch Blutegel, welche kurz vorher im Gebrauch waren, nur unter ganz besonders ungünstigen Umständen wird erfolgen können, deren Zusammentreffen zudem durch die Behandlung der Blutegel durch die Apotheken und die Maßnahmen beim Verkauf in wirksamer Weise verhindert wird. Wir übergehen es, die letzteren an dieser Stelle zu erörtern, und beschränken uns darauf, lediglich auf die lange Haltbarkeit verschiedener pathogener Mikroorganismen und Immunkörper in den Blutegeln und die Übertragungsmöglichkeit von Krankheitserregern durch die Egel hinzuweisen.



2. Tag. 20. Mai.

1. Vorsitzender: Fraenkel (Halle)
2. Vorsitzender: Kraus (Wien).

Friedberger (Berlin):

Vor der Tagesordnung.

Mit gütiger Erlaubnis des Herrn Vorsitzenden möchte ich Ihnen vor der Tagesordnung noch eine kurze Demonstration abhalten.

Die Herren Biedl und Kraus haben gestern in der Anaphylaxiedebatte zwar anerkannt, daß das von mir dargestellte Anaphylatoxin ein auf Meerschweinchen akut tödlich wirkendes Gift ist; es soll aber deswegen nicht das bei der Anaphylaxie wirksame sein, weil bei den mit Anaphylatoxin vergifteten Tieren das nach ihrer Meinung allein für die Anaphylaxie charakteristische Symptom von Auer und Lewis fehle. Als ich gestern nach Schluß der Sitzung in mein Laboratorium kam, hatte mein Mitarbeiter Herr Dr. Vallardi gerade ein Tier mit Anaphylatoxin getötet. Bei der Sektion fand sich typische Lungenblähung. Die Vergiftung eines weiteren Meerschweinchens mit einer anderen Giftquote konnte dann Herr Valardi kurz danach den Herren Doerr, Ruß und Raubitscheck demonstrieren. Auch bei der Sektion dieses Tieres, die Herr Doerr vornahm, fand ich typische Lungenblähung.

Zur Kontrolle wurde ein Meerschweinchen durch Verschluß der Trachea erstickt. Hier war die Lunge bei der Sektion vollkommen kollabiert.

Ich demonstrierte ihnen diese 3 Tiere, von denen die beiden vergifteten, wie Herr Kraus mir bestätigen wird, eine Lungenstarre zeigen, genau wie die bei der aktiven und passiven Anaphylaxie eingegangenen.

Obwohl wir selbst keinen Grund sehen, gerade diesem Symptom die allein ausschlaggebende Bedeutung beizulegen, so dürfte es doch auch im Sinne von Biedl und Kraus nunmehr endgültig erwiesen sein, daß das von mir dargestellte Anaphylatoxin das echte Anaphylaxiegift ist.



Es erhält das Wort zum Referat

Hartmann (Berlin):

Ueber Chlamydozoen.

Im Jahre 1907 hat v. Prowazek im Anschluß an v. Halberstädter und ihm bei Trachom erhobene Befunde den Versuch gemacht, unter dem Namen „Chlamydozoen“ die fraglichen, in unserer heutigen Versammlung zur Diskussion stehenden Erreger einiger Krankheiten zusammenzufassen, deren Virus eine Reihe gemeinsamer Eigentümlichkeiten aufweist. Es handelt sich hauptsächlich um Variola-Vaccine, Trachom- resp. Einschlußblennorrhöe, Molluscum contagiosum des Menschen und die Geflügelpocke, resp. Geflügeldiphtherie. v. Prowazek hatte anfangs auch noch die Lyssa, Scharlach und Masern, Maul- und Klauenseuche sowie die Gelbsucht der Seidenraupen hierher rechnen zu können geglaubt, doch sind die bisherigen Resultate bei diesen Krankheiten noch zu unsicher so daß sie, um nicht die gesicherten mikroskopischen Befunde bei den erstgenannten in Mißkredit zu bringen, zunächst am besten nicht mit berücksichtigt werden.

Das Virus der uns hier interessierenden Krankheiten besitzt vor allem zwei Hauptcharakteristika. Erstens passiert es die gewöhnlichen Bakterienfilter und zweitens ruft es in der infizierten Zelle ganz charakteristische Reaktionsprodukte (Zelleinschlüsse) hervor, die teils nach ihren Entdeckern, teils nach den betreffenden Krankheiten benannt werden, so die Guarnierischen Körperchen bei Variola-Vaccine, die Prowazekschen Körperchen bei Trachom resp. der Einschlußblennorhöe, die Molluskumkörperchen, die Epitheliomkörperchen des Geflügels, die Negrischen Körperchen bei Lyssa usw.

Die Filtrierbarkeit des Virus hat für das Vaccinevirus zuerst Negri erwiesen, dessen Angabe von einer Reihe von Forschern (Siegel, Mühlens und Hartmann, Cassagrandi und Remmlinger usw.) bestätigt wurden. Für das Lyssavirus zeigten Remmlinger und Riffat Bey, daß es in unvollkommener Weise durch Berkefeld Filder V filtriert wird. Für das Epithelium der Vögel wurde die Filtrierbarkeit von Marx und Sticker, Borrel, Burnet erwiesen, währand mit dem Trachomvirus zuerst Bertarelli positive Filtrationsversuche angestellt hat.

Die charakteristischen Reaktionsprodukte oder Zelleinschlüsse, die speziell für das Molluscum contagosium schon lange bekannt sind, wurden zu Beginn der Forschung meist als die Erreger der betreffenden Krankheiten, und zwar als Protozoen angesprochen. Diese Ansicht konnte sich jedoch auf die Dauer nicht halten, und die zweite Auffassung, wonach man in diesen Gebilden Reaktionsprodukte der Zelle zu erblicken habe und die wohl zuerst in eingehender Weise Hückel für die Vaccine nachzuweisen versucht hat, dürfte wohl jetzt allgemeine Anerkennung gefunden haben. Daß die betreffenden Gebilde nicht Parasiten sein



können, geht, abgesehen von der oben erwähnten Filtrierbarkeit des Virus, die sich mit der doch beträchtlichen Größe dieser Gebilde absolut nicht verträgt, vor allem in klarer Weise aus dem Versuch von Prowazek hervor, der bei Vaccine die Guarnierischen Körperchen durch Kochsalzlösungen vollkommen zerstört hatte und trotzdem mit diesem Material noch positive Impfungen ausführen konnte. Ferner spricht im hohen Grade dagegen, daß diese Gebilde vielfach in Organen und Zellen fehlen, die, wie experimentell nachgewiesen, hochgradig infektiös sind. Daß es sich um spezifische Reaktionsprodukte der Zelle handelt, zeigen auch die histologisch-entwicklungsgeschichtlichen Studien, im Verlaufe derer von Prowazek sowie Hartmann und Mühlens für Vaccine, v. Prowazek und Halberstädter und andere für Trachom eine Entstehung dieser Körper unter Beteiligung austretender Chromatin- und Nuklearsubstanzen des Kernes nachweisen konnten. Meines Wissens gibt es heutzutage nur noch 2 Forscher, die an der Protozoennatur dieser Gebilde festhalten, der Zoologe Calkins und der Mediziner Negri.

Dagegen wurden in neuerer Zeit in resp. neben diesen Reaktionsprodukten noch kleinere, an der Grenze der Sichtbarkeit stehende Körnchen gefunden, die mit viel größerer Wahrscheinlichkeit als die so lange gesuchten Erreger dieser Krankheiten angesprochen werden können. Diese Elementar- und Initialkörperchen, wie sie genannt werden, wurden zuerst von Prowazek bei Vaccine, von Borrel bei Taubenpocken gefunden, Befunde, die später von Mühlens und Hartmann für Vaccine, Burnet und Lipschütz für Taubenpocken und Molluscum contagiosum des Menschen bestätigt wurden. Immerhin waren diese Befunde nicht ausreichend, um ein einigermaßen sicheres Urteil über die Natur dieser Körperchen gewinnen zu können. Ein größerer Fortschritt trat erst ein durch die Beobachtungen von Halberstädter und Prowazek bei Trachom, wobei diese beiden Forscher durch Übertragungsversuche auf Affen in der Affenkonjunktiva eine Art Entwicklung der Reaktionsprodukte sowie der darin vorkommenden vermutlichen Erreger feststellen konnten. Diese Untersuchungen wurden später von einer Reihe von Forschern, wie Frosch, Greef und Claussen, Leber und Hartmann, Herzog, Lindner, Wolfrum usw. bestätigt und erweitert, so daß man jetzt folgendes Bild davon geben kann:

Zunächst trifft man in der infizierten Zelle größere Körner meist in der Nähe des Kernes (Initialkörperchen) (zuerst von Herzog und Lindner beschrieben) die sich hantelförmig teilen. Später werden diese Körner von Reaktionsprodukten (Nukleolarsubstanzen) umhüllt durch fortgesetzte Vermehrung entsteht eine große Anzahl kleinerer Körnchen, die sogenannten Elementarkörperchen, die zusammen mit dem ausgeschiedenen Reaktionsprodukt des Kernes einen Einschlußkörper in der Zelle bilden, der meist dem Kern kappenartig aufsitzt. Wegen der Eigenschaft der als Parasiten anzusprechenden Elementarkörperchen durch ihr Eindringen in die Zelle dieselbe zur Ausscheidung eines die Parasiten mantelartig umhüllenden Reaktionsproduktes anzuregen, nannte v. Prowazek diese Parasiten „Chlamydozoen". Durch immer weitere Vermehrung der Elementarkörperchen zerfällt schließlich der Einschlußkörper, von dem nur noch einzelne Schollen übrig bleiben und die ganze Zelle ist von den Elementarkörperchen dicht erfüllt.



Bei den Elementarkörperchen wurden von Hartmann und Leber hantelförmige Teilungsbilder beobachtet.

Bei Vaccine wurden die Initialkörperchen zuerst von Prowazek in der Kaninchenkornea gesehen, was von Hartmann und Mühlens bald darauf bestätigt wurde. Paaschen fand weiterhin in der klaren Lymphe eines geimpften Kindes kleinere Körperchen (Elementarkörperchen) und denselben Befund erhob Volpino in der Kuhlymphe. Bei der Kleinheit der Gebilde und der Unmöglichkeit, ihre Entwicklung genauer festzustellen, konnten diese Beobachtungen noch nicht die Ueberzeugung von der lebenden Natur der Gebilde erbringen. Im hohen Grade sprechen aber dafür die schönen Versuche, die v. Prowazek und Aragão während einer Variolaepidemie in Rio de Janeiro angestellt haben. Sie filtrierten zunächst das Variolavirus durch einen Berkefeld-Filter und das dadurch vollkommen bakterienfrei gewordene, aber noch infektiöse Filtrat nochmals durch einen Agarfilter (Ultrafilter), wonach die Infektiösität des Virus verschwunden war. Durch das Agarfilter war mithin das Virus zurückgehalten worden und man konnte annehmen, auf der Oberfläche des Agars auf diese Weise eine Anreicherung des Virus zu finden. Und in der Tat fand sich dort ein fast gleichmäßiger Belag von gleich großen, distinkten Körperchen, bei denen man hantelförmige Teilungsstadien beobachten konnte. Sie machen wie die Elementarkörperchen bei Trachom durchaus den Eindruck von Mikroorganismen. Sie stimmten mit den von Volpino und Paaschen gefundenen Körperchen überein.

Prinzipiell dieselben Resultate ergaben schon vorher die Untersuchungen von Lipschütz bei Molluscum contagiosum, der auf Schnitten und in Ausstrichen neben den eigentlichen Einschlußkörperchen (Molluscumkörperchen) kleinste distinkte Körner nachweisen konnte, die sich ebenfalls hantelförmig teilen.

Auch bei Lyssa hat Negri neuerdings ähnliche kleine Körper in den großen Negri'schen Körperchen nachgewiesen, die eventuell wie mit den schon früher von Babes im Plasma der Zellen sowie auch neuerdings von Joseph Koch beschriebenen Körnchen identisch sind. Da jedoch bei den Nerven auch normalerweise im Plasma der Zellen Körnchen vorkommen, deren Differenzierung sehr große Schwierigkeiten macht, so ist bei der Beurteilung dieser Befunde vorderhand noch große Vorsicht geboten.

In all den hier beschriebenen Fällen handelt es sich um ein Virus, das sich stets in den ektormalen Zellen lokalisiert, in denen wir dann die entsprechenden histologischen Befunde erheben können. Damit stehen sehr gut die experimentellen Untersuchungen in Einklang, wonach das Virus dieser Krankheiten nur in ganz geringem Maße in den inneren Organen und im Blut kreist.

Wenden wir uns nun zu der Frage der Spezifität der oben berichteten Befunde. Bei Variola-Vaccine, dem Molluscum contagiosum und der Taubenpocke ist die Spezifität sowohl der Reaktionsprodukte wie der Elementarkörperchen ohne weiteres klar, ja das Auftreten der Guarnierischen Körperchen kann für Variola-Vaccine als das beste Diagnostikum gelten. Auch bei Trachom schienen anfangs nach den bestätigenden Befunden von Frosch, Greef und Clausen, Leber und Hartmann usw. die Verhältnisse ähnlich klar zu liegen. Da be-



richtete im vorigen Jahre Heymann, daß die Trachomkörperchen nicht nur bei Trachom, sondern auch bei Blennorrhöe mit und ohne Gonokokken gefunden würden. Eine sofortige Nachuntersuchung von Halberstädter und v. Prowazek führten diese Forscher zu dem Resultat, daß die sog. Trachomkörperchen nur bei nicht gonorrhoischen Blennorrhöen, und zwar nicht nur in der Konjunktiva, sondern auch in der Vagina gefunden würden und sprachen die Ansicht aus, daß hier das Virus einer bisher noch nicht erkannten Krankheit vorliege. Lindner dagegen, der diese Frage durch Experimente und histologische Untersuchungen eifrig gefördert hat, kommt dann zur Ansicht, daß Trachom und Blennorrhoea neonatorum identisch sei, eine Ansicht, der sich jetzt auch v. Prowazek und Halberstädter angeschlossen haben. Heymann aber, der gleichfalls seine ersten Beobachtungen durch eingehende weitere Untersuchungen verfolgt hat, kam nun zwar auch zu dem Resultat, daß die Blennorrhöen mit Prowazek'schen Körperchen in der Regel nicht mit Gonokokken zusammenkommen und daß es sich um ein Virus sui generus handelt. Doch hält er außer den beiden oben genannten Ansichten noch eine dritte für möglich, ja sogar für wahrscheinlicher, wonach dieses Virus weder mit der gonorrhoischen Blenorrhöe noch mit dem Trachom etwas zu tun habe und auch dort, wo es bei Trachom gefunden wird, als Mischinfektion aufzufassen sei. Welche dieser drei Ansichten zu Recht besteht, kann bei dem jetzigen Stand der Forschungen nicht entschieden werden. Hierzu sind eine Reihe weiterer experimenteller Untersuchungen, speziell auch ev. Rückimpfungen von Affen auf Menschen noch notwendig. So viel scheint mir jedoch sicher, daß es sich auch beim Trachom resp. der Einschluß-Blennorrhöe um ein spezifisches Virus handeln muß.

Es fragt sich nun, als was die Initial- und Elementarkörperchen zu deuten sind. Es sind zwei Hypothesen möglich, einmal daß es sich um belebte Parasiten und somit die Erreger der betreffenden Krankheiten handelt und zweitens, daß sie in ähnlicher Weise wie die großen Einschlußkörper um spezifische Reaktionskörperchen oder Degenerationsprodukte handelt. Für die letztere Hypothese läßt sich keine Analogie aus dem ganzen Gebiete der Zellpathologie, auch der in letzter Zeit so rege betriebenen Pathalogie der Protozoenzellen anführen. Außerdem sind wir dann gezwungen, noch eine weitere Hypothese anzunehmen, daß nämlich das Virus der betreffenden Krankheiten invisibel sei. Diese letztere Ansicht galt ja bis vor kurzem gerade wegen der Filtrierbarkeit dieser Vira als die allgemeine, doch lassen sich dagegen die Erfahrungen der neueren Colloidphysik anführen. Zugunsten der erstgenannten Hypothese dagegen sprechen sich eine ganze Anzahl von Gründen. Zunächst handelt es sich um so distinkte Körperchen, wie wir sie bei Degenerationsprodukten nie finden und die bei mikroskopischer Beobachtung ganz den Eindruck von Mikroorganismen hervorrufen. — Ferner konnten, wie oben berichtet, hantelförmige Teilungsbilder und was vielleicht noch wichtiger ist, eine Entwicklung bei ihnen beobachtet werden, was beides für protozoische Parasiten charakteristisch ist. Ja, wir kennen neuerdings derartige Parasiten, deren Parasitennatur im Verlaufe ihrer weiteren Entwicklung ganz unzweifelhaft zutage tritt (*Nucleophaga* etc.), die nicht von den hier beschriebenen Gebilden unterschieden werden können. All das macht es im hohen Grade wahr-



scheinlich, daß diese Gebilde in der Tat die gesuchten Erreger sind. Bewiesen ist dies ja allerdings bisher noch nicht; aber wenn wir diese Hypothese, für die wir, wie gesagt, eine Reihe von Analogien anführen können, annehmen, dann sind wir in der Lage, mit den vorliegenden Befunden die Aetiologie der genannten Krankheiten zu verstehen, während im anderen Falle wir, wie gesagt, noch weitere Hypothesen heranziehen müßten. Wohl bieten die genannten Krankheiten noch eine Reihe von ungelösten Problemen, ja, die Frage nach der Aetiologie von Trachom ist sogar momentan unklarer denn je. Aber so viel ist wohl sicher, daß wir durch die Untersuchungen, über die ich Ihnen hier berichtet habe, eine sichere Basis gewonnen haben zum weiteren Eindringen in das dunkle Gebiet der sogenannten invisiblen Krankheitserreger.

Flemming (Berlin):

Ueber Chlamydozoen vom Standpunkte des Mediziners.

Nach den Ausführungen des Herrn Vorredners bleibt mir vor allem übrig, vom Standpunkt des Mediziners aus die Bedeutung der sogenannten Chlamydozoen zu betrachten.

Von diesen nehmen die Chlamydozoen, die zuerst beim Trachom gefunden waren und deshalb heute noch vielfach als Trachomchlamydozoen oder Trachomkörperchen bezeichnet werden, auch insofern eine Sonderstellung ein, als sie im Gegensatz zu den ähnlichen Gebilden beim Molluscum contagiosum, Epitheliom der Vögel, Lyssa, Variola bisher fast nur auf einer Schleimhaut gefunden sind, die, weil unserer direkten Betrachtung leicht zugänglich, mikroskopisch wie klinisch in letzter Zeit von Bakteriologen und Okulisten gerade in bezug auf Bedeutung dieser Chlamydozoen eingehend beobachtet ist. Auch ich werde mich deshalb vor allen mit diesen zu beschäftigen haben. Es sind nun von den meisten dieser Autoren nicht eine, sondern oft mehrere Arbeiten veröffentlicht, deren letzte, auf Grund von eigenen oder Befunden anderer, oft ein ganz anderes Gesicht zeigte als die erste. Um deshalb nicht diese schon an und für sich nicht einfache Frage über die Bedeutung der Schleimhautparasiten durch ein Referat nach zeitlichen Gesichtspunkten noch zu komplizieren, möchte ich von dem heutigen Standpunkte der Autoren ausgehen und retrograde Betrachtung der Arbeiten nur in aller Kürze erfolgen lassen.

Bis zum internationalen Kongreß in Budapest schienen sich die Trachomkörperchen auch insofern wenig von den anderen Chlamydozoen zu unterscheiden, als sie in gleicher Weise wie bei Scharlach, Epitheliom der Vögel, Variola, Vaccine, Molluscum contagiosum nur bei einem Krankheitstypus gefunden waren.

Alle diesbezüglichen Arbeiten von v. Prowazek und Halberstädter, Graeff, Frosch und Clausen, Herford, di Santo, Leber und Hartmann, Herzog, Lindner, Bertarelli und Cechetto, Krü-



dener, Myaschita, Gutmann, Reis, Bothevi, Wolfrum hatten immer wieder hervorgehoben, daß diese Gebilde für Trachom spezifisch seien. Um so aufsehenerregender wirkten da die Mitteilungen Heymanns, der die sowohl von Halberstädter und v. Prowazek als auch von Greeff als die Erreger des Trachoms angesprochenen Gebilde unter anderen auch in 4 Fällen von Conjunctivitis gonorrhoica neonatorum gesehen haben wollte. Zwar hatten Stargardt und Schmeichler schon vordem über je einen Fall von positivem Trachomkörperchenbefund bei Blennorrhoea neonatorum berichtet, immerhin aber an der Spezifizität der vermeintlichen Trachomerreger nicht gezweifelt. Erst Heymann zog aus seinen positiven Befunden den logischen Schluß, daß es sich bei den Trachomkörperchen nicht um die Erreger des Trachoms handeln könne, ja äußerte selbst Bedenken gegen ihre Belebtheit. Schon im Oktoberheft der Berl. Klin. Wochenschr. antworteten Halberstädter und v. Prowazek. Auf Grund von negativem Chlamydoezonbefund bei gonorrhoischer Blennorrhöe der Neugeborenen und gonorrhischer Urethitis, und positiven Chlamydozoenbefund bei nicht gonorrhoischer Blennorrhöe sahen sie eine völlige Unabhängigkeit der charakteristischen Epitheleinschlüsse von gonorrhoischen Prozessen als bewiesen an. Wir halten, so schrieben sie, daher nach wie vor an unseren Anschauungen fest und erweitern sie nur insofern, als es eine gewisse Gruppe nicht gonorrhoischer Blennorrhöen der Neugeborenen gibt, bei denen Chlamydozoen nachgewiesen werden und die wir ebenfalls als Epitheliose auffassen wie das Trachom. Noch weiter ging Lindner. In der Fuchsschen Augenklinik hatte er 31 Säuglingsblennorrhöen untersucht. 3 von ihnen mit durchaus negativem Ergebnis wurden als alte Fälle ausgeschieden, unter den übrigen 28 befanden sich 13 mit Gonokokken, 15 ohne sie. Von den ersteren, gonorrhoischen, enthielt nur 1, von den letzten, nicht gonorrhoischen, jede ohne Ausnahme die charakteristischen Gebilde. Aus diesen Befunden schließt Lindner, daß es beim Säugling eine Gruppe von Blennorrhöe gibt, die durch den Gonokokkus hervorgerufen wird, und eine andere mit negativem Bakterienbefund, aber positivem Chlamydozoenbefund, bei dem es sich um echtes Trachom der Säuglinge handelt. Ja er spricht bereits von einem Trachom der Geschlechtswege. Denn sowohl Halberstädter und v. Prowazek, die in 2 Fällen die Mütter von Neugeborenen mit nicht gonorrhoischer Genitalblennorrhöe untersuchten und in dem einen Fall unzweifelhaft identische Einschlüsse in den Epithelzellen der Harnröhrenmündung gefunden hatten, sowie Hofstätter und ihm sei es gelungen, diese Chlamydozoen in Form typischer Epitheleinschlüsse in Fällen nicht gonorrhoischer Urethritis mikroskopisch nachzuweisen sowie nach Uebertragung von entsprechendem Sekret auf Affen dieselben in den Konjunktivalepithelien der infizierten Tiere aufzufinden. Auch pathologisch-anatomisch sowie klinisch sei durch diese Impfung echtes Trachom auf der Konjunktiva hervorgerufen. Zum Beweise demonstrierte Lindner einen Schnitt von der Konjunktiva eines Macacus, den er mit Sekret einer sogenannten Einschlußblennorrhöe geimpft hatte. Dieser Schnitt zeigte typische Trachomkörner.

Auf Grund dieser Befunde Lindners geben Halberstädter und Prowazek ihren bisherigen dualistischen Standpunkt auf und äußern sich in Nr. 15 der Berl. Klin. Wochenschr. folgendermaßen: In



unserer früheren Mitteilung haben wir die Vermutung ausgesprochen, daß die Chlamydozoen der Blennorrhöe morphologisch zwar identisch sind mit denen des Trachoms, daß sich aber biologisch die beiden Virusarten doch voneinander unterscheiden könnten. Da es nun aber Lindner und Hofstätter gelungen ist, mit den Blennorrhöe-Chlamydozoen im Versuch bei Affen typisches Trachom zu erzeugen, betrachten wir diesen experimentellen Beweis als zwingend und pflichten Lindners Annahme bei.

Auf denselben Standpunkt Lindners stellt sich eine aus der Leipziger Universitäts-Augenklinik von Wolfrum veröffentlichte Arbeit, der bei 8 gonokokkenfreien Säuglingsblennorrhöen 4 mal, bei 20 gonokokkenhaltigen niemals die charakteristischen Körperchen gefunden hat und der mit diesem chlamydozoenhaltigen Augensekret durch Uebertragung auf Erwachsene angeblich echtes Trachom der Konjunktiva erzeugte.

Damit kehren Vertreter der Sattlerschen und Fuchsschen Augenklinik zurück zu den schon allgemein verlassenen Anschauungen, die Arlt 1881 in seiner „Klinischen Darstellung des Trachoms“ mit folgenden Worten begründet: „Ich halte es demnach für das Wahrscheinlichste, daß die sogenannte Granulose nicht ein Morbus sui generis, sondern nur eine modifizierte Blennorrhöe sei, eine Krankheit, welche ursprünglich durch die Uebertragung eines Genitalschleimflusses auf die Augen entstanden, allmählich durch Uebertragung von Auge zu Auge, von Individuum zu Individuum an Heftigkeit verloren, an Hartnäckigkeit gewonnen hat und durch ungünstige äußere Verhältnisse wieder zum höchsten Grade gesteigert werden kann.“

Diesen Standpunkt Lindners, Wolfrums, Halberstädters und v. Prowazeks halte ich entgegen, daß mir zunächst noch Zweifel bestehen, ob Lindner und Wolfrum durch ihre Uebertragungen auf Affen und Menschen wirklich echtes Trachom erzeugt haben. Lindner wie Wolfrum führen als beweisende Unterlagen für ihre Behauptungen an, daß sich echte Trachomfollikel nach der Uebertragung gebildet hätten. Sind aber Follikel allein sichere Symptome echten Trachoms? Wie Schmidt-Rümpler in seiner Veröffentlichung „Ist der Trachomerreger entdeckt,“ ausführt, ist das Trachom keineswegs vorzugsweise eine Erkrankung der Konjunktivalepithelien, wie Halberstädter und v. Prowazek glauben, sondern vielmehr eine Erkrankung der adenoiden Schicht der Konjunktiva mit Follikelbildung und Tendenz zur Narbenbildung. Ein weiteres sicheres Merkmal für Trachom wird allgemein in dem Pannus der Hornhaut anerkannt. Lindner und Wolfrum haben bei ihren Uebertragungsversuchen von Follikelbildung, niemals aber von der typischen Entartung der adenoiden Schicht der Konjunktiva und Pannus berichtet. Bevor aber auch diese Veränderungen nicht nachgewiesen sind, kann m. E. von der Erzeugung eines echten Trachoms durch Uebertragung von blennorrhoischem Sekret auf Mensch und Affen nicht die Rede sein.

Denn Greeff und Addario haben uns durch Ueberimpfung von Mensch zu Mensch gezeigt, daß alle die erwähnten charakteristischen Symptome insbesondere entartete Schleimhaut und Pannus als Impfeffekte des trachomatösen Materials auftreten. Die Follikelbildung allein reicht daher zum Beweise eines echten Trachoms nicht aus. Denn die Follikel an und für sich bieten nichts Charakteristisches. Wie Halberstädter



und v. Prowazek früher selbst mit Recht angeführt haben, kommen sie auch bei „Atropinkonjunktivitis und bei der sogenannten chronischen Blennorrhöe“ vor. Auch der sogenannte Follikularkatarrh ist gerade durch das Auftreten der Follikel charakteristisch. Um so mehr muß man sich daher wundern, daß Halberstädter und v. Prowazek auf Grund dieser wenigen Versuche von Lindner dessen Ansicht teilen. Noch dazu wo Halberstädter und v. Prowazek bei niederen Affen keine, bei Orang-Utans zwar sichere klinische Erscheinungen wie Rötung, Schwellung u. dgl. gesehen haben wollen, niemals aber ein Krankheitsbild, das dem des menschlichen Trachoms entsprach. Abgesehen von unseren eigenen Erfahrungen von Follikelbildung bei Affenversuchen stützen sich unsere Zweifel an den gelungenen Uebertragungen von echtem Trachom bei Lindner und Wolfrum auf die letzthin veröffentlichten Beobachtungen von Heymann. Fast stets waren die Symptome der durch Impfung bei Affen erzeugten Follikularkonjunktivitis derart, daß sie sich vom menschlichen Trachom deutlich unterscheiden ließen. Nur selten entwickelten sich trachomähnliche Zustände und ein Bild, das nach dem Urteil Uthoffs eine beachtenswerte Annäherung an das menschliche Trachom darstellte, kam bis jetzt nur in einem einzigen Falle zustande. Im übrigen zeigen Heymanns Ergebnisse, daß die Chlamydozoen nicht nur auf der nicht trachomatösen Konjunktiva einer Wöchnerin und von Säuglingen vorkommen, sondern auch in den Genitalien der Eltern dieses, daß sie sich sowohl von Konjunktiva wie von Genitalien auf Affenkonjunktiva und Affenvagina verimpfen lassen, mit positiver klinischer Reaktion in der Konjunktiva, mit oft negativer klinischer Reaktion in der Vagina der Affen. Auch chlamydozoenfreies Genitalsekret der Eltern blennorrhöekranker Kinder ergab klinisch wie mikroskopisch gleichfalls positive Impfeffekte.

Auf Grund dieser Befunde glaubt auch Heymann an diesen Unitarierstandpunkt nicht, weil der Impfeffekt mit trachomatösem Material ein anderer war als der mit nicht trachomatösem einschlußhaltigen Sekret. Bei dem ersten traten mehrmals keine klinische Reaktion und kein Chlamydozoenbefund ein, bei dem einschlußhaltigen Sekret dagegen stets und mit gleichmäßigem klinischen Ablauf. Zweitens sprechen für ihn dagegen auch epidemiologische Erwägungen, weil z. B. in Breslau trotz häufiger Säuglingsblennorrhöe nur 21 Trachomfälle jährlich gemeldet wurden. So kommt Heymann bezüglich der Bedeutung der Chlamydozoen zu dem Standpunkte, daß diejenigen Trachomfälle, die Chlamydozoen enthalten und ein positives Impfresultat ergeben, gar nicht reine Trachome sind, sondern Mischinfektionen mit dem Virus der nicht trachomatösen Einschlußaffektionen, ganz ähnlich wie die Einschlußkonjunktivitis gelegentlich auch die Gonorrhöen und diese nicht selten das Trachom begleitet. Die Prowazekschen Körperchen wären deshalb streng spezifisch für die nicht trachomatösen Einschlußaffektionen und hätten mit dem Trachom überhaupt nichts zu tun.

Daß unter diesen 3 Hypothesen — der früheren dualistischen Auffassung von Halberstädter und Prowazek, der Identitätstheorie von Lindner-Wolfrum und der zuletzt angeführten Heymanns — sich schon die zutreffende finden wird, wie Heymann annimmt, glauben wir nach unseren insbesondere klinischen Erfahrungen nicht.

Denn nach allen bisherigen Untersuchungen ist zweifellos festgestellt, daß die fraglichen Gebilde bei typischem Trachom und bei typischer Blennorrhoea gonorrhoica der Säuglinge gefunden worden sind. Hat aber das klinische Bild des Trachoms mit seinen Follikeln, seinem regressiven Veränderungen der Konjunktiva und der Lider, mit dem Pannus der Hornhaut im entferntesten Aehnlichkeit mit der Blennorrhoea neonatorum irgendeiner Form? Heilt nicht die Blennorrhoea gonorrhoica neonatorum fast stets ohne bleibende Folgen aus, das Trachom aber so gut wie nie? Und sind nicht sämtliche hier als Beweis angeführte Impfungsversuche anders und doch einfacher zu erklären? Man dränge diese Gebilde in die Rolle von Parasiten oder Mischinfektionserreger zurück, und jeder Versuch ist auch hier eindeutig. Aber dafür, daß sie selbständige Erreger der Erkrankungen sind, ist der Beweis nicht im geringsten erbracht. Stets wurde bei den betreffenden Versuchen mit diesen Gebilden noch anderes Material verimpft, in dem mit derselben Wahrscheinlichkeit der eigentliche Erreger der klinischen Reaktion sich befunden haben kann, niemals die Chlamydozoen allein.

Diese Auffassung wird gestützt durch weitere Beobachtungen, nach denen die Chlamydozoen auch noch mit anderen Bakterien, die bereits als sichere Erreger von Schleimhautkatarrhen bekannt sind, nachgewiesen werden konnten. So sah sie Addario in 3 Fällen bei Diplokokken- und zur Nedden bei Streptokokkenkonjunktivitis Meyerhoff bei Koch-Weckscher Bazillenkonjunktivitis wir in 3 Fällen von Pneumokokkenkonjunktivitis und in 1 Fall mit Gonokokken zusammen auch bei der Conjunctivitis gonorrhoica.

Außerdem wurden sie — abgesehen vom Trachom — ohne gleichzeitigen bakteriellen Befund von Pascheff und uns beim Follikularkatarrh, von Addario bei Conjunctiva subacuta und auch angeblich auf normalen Bindehäuten von Heymann bei einer nicht trachomatösen Konjunktivitis einer Wöchnerin festgestellt. Brauchen wir da die Chlamydozoen noch als selbständige Erreger dieser Krankheiten? Und müssen wir nicht vielmehr annehmen, wenn wir sie bei so vielen ätiologisch gut bekannten Erkrankungen vorfinden, daß dort, wo sie nur allein vorkommen, der wahre Erreger uns immer noch fehlt?

In dieser Annahme sind wir bestärkt durch den klinischen Verlauf bestimmter aber verschiedener Krankheitsfälle, deren Erreger oder Typus wir mit Sicherheit nachweisen und bei denen wir immer die charakteristischen Chlamydozoen beobachten konnten.

Zunächst welche Formen fassen wir heute unter Chlamydozoen zusammen? Auf dem Kongreß in Budapest unterschied Heymann zwischen Trachomkörperchen mit Hülle nach v. Prowazek und Trachomkörperchen ohne Hülle nach Greeff, Herzog sprach von Initialelementen, Frühstadien, Reifestadien. v. Prowazek sagt an anderer Stelle, „man findet dunkelblaue nicht homogene Einschlüsse im Protoplasma, die allmählich wachsen; innerhalb der Zellen tauchen feine Körnchen auf, die sich rapid vermehren, die blau gefärbten Massen verdrängen und zum Verschwinden bringen“. Sehr verschieden müssen danach die Gebilde sein, die von den einzelnen Autoren beobachtet wurden. Daraus, daß die verschiedensten Formen immer wieder im selben



Präparat anzutreffen sind, kann man wohl mit Recht vermuten, daß sie wesensgleiche Gebilde sind, vielleicht auch Entwicklungsstadien derselben Form. Aber gesehen hat noch niemand die Entwicklung einer Form aus der andern, und es erscheint mir demnach verfrüht, von Entwicklungsphasen zu sprechen. Indessen erscheint es mir schon der Einfachheit der Bezeichnung halber praktisch, gewisse Typen zusammenzufassen, die sich namentlich nach der Gimsafärbung und Differenzierung leicht voneinander abgrenzen lassen. Dazwischen sind Uebergänge stets zu finden.

Unter Typ I möchten wir verstehen jene dunkelblau gefärbten, dicken, unregelmäßigen Einzelkörner von mehr als Kokkengröße, die zu 1, 2 oder in regelmäßigen Haufen nach Form und Lagerung wohl Teilungsfiguren nach Leber, Herzog darstellen können. Mit einem Hof umgeben sieht man sie meistens in irgendwelcher Beziehung zum Kern der Epithelzelle liegen. Leber und Lindner wollen sie sogar in den Kernen, ja selbst in roten Blutkörperchen festgestellt haben. Dies habe ich nie beobachten können. Wohl bemerkt man manchmal Kerne mit ungefärbten umschriebenen Herden, in denen die Einzelkörner auffallend hervortreten. Aber wer beweist, daß sie wirklich in den Kernen liegen? Auch in der ungefärbten Zelle nach dem Tuscheverfahren erscheinen die Konturen der Kerne, denen die Trachomkörperchen angelagert sind, stets intakt, die Kerne erhalten wohl eine „Ueberschneidung“ durch die Trachomkörperchen, aber nie eine Unterbrechung ihrer scharfen Grenze.

Typ II besteht aus der dem Kern aufsitzenden Kappenform. Die Einzelkörner sind kleiner als bei Typ I, aber sehr regelmäßig von der gleichen Größe und Form, wie dort blau gefärbt, nach Prowazek von Plastin umhüllt.

Bei dem Typ III haben die Einzelkörner die blaue Hülle verloren, sie sehen glänzend rotviolett aus. Plastinmassen lagert oft noch zwischen ihnen. Die Größe der Einzelkörner steht an der Grenze der Sichtbarkeit. Sie sind einzeln und im ganzen Haufen umgeben von einem Hof, sitzen wie Typ II dem Kern haubenförmig auf, aber zumeist in größeren Kappen, verdrängen oft den Kern in der Zelle, ja füllen sie oft vollkommen unter Abplattung des Kernes aus.

Unter Typ IV fasse ich alle Körnchen von der Form und Größe des vorigen Typ III zusammen, die einzeln oder in kleinen uncharakteristischen Haufen außerhalb der Zelle, auch in der Zelle bisweilen, aber ohne Beziehung zum Kern der Zelle liegen.

Als positiv haben wir bisher die Formen II und III angesehen, ich trage aber nicht das geringste Bedenken, von vornherein auch den Typ I als solchen zu betrachten. Wenn auch seltener, kommen diese Formen doch fast immer mit den anderen Typen in denselben Präparaten vor und sind vollkommen eindeutig. Die 4. Form aber, freie rote Einzelkörnchen in und außerhalb der Zelle, die Lindner bei Pannus trachomatosus z. B. schon allein als beweisend ansieht, darf m. E. nur im Verein mit den anderen Formen als positiv gelten, ebenso wie gramnegative Diplokokken erst als Gonokokken angesprochen werden bei typischer Lagerung innerhalb der Zelle. Nach diesen Gesichtspunkten ist die dort hängende Tabelle A von 14 verschiedenen beobachteten



Fällen zusammengestellt nach Krankheitsdauer und den Chlamydozoenbefund in den einzelnen Krankheitsphasen. Der senkrechte Haken bedeutet klinische Heilung.

Im ersten Fall handelt es sich bei einem 3 Wochen alten Kinde um eine Blennorrhöe, bei der außer den Chlamydozoen bakterielle Erreger nicht nachgewiesen wurden. Es entspricht dieser Befund also einem Symptomenkomplex, wie er von Halberstädter und v. Prowazek und von Lindner als charakteristisch für die Neugeborenenblennorrhöe bezeichnet und als Chlamydozoen-Epitheliose aufgefaßt wird.

Nr. 2—6 sind Fälle, bei denen Gonokokken sowohl wie Ausstrich als auch meist durch das Kulturverfahren auf Ascitesagar zweifellos festgestellt werden konnten und deren klinischer Verlauf für eine gonorrhoische Aetiologie typisch war. Mit Ausnahme von Nr. 3 ist allen diesen Fällen eigentümlich, daß zunächst bei vielfachen Untersuchungen Chlamydozoen nicht gefunden wurden und zwar entsprachen diese negativen Befunde stets der ersten Krankheitsperiode. Nur bei Nr. 3 gelang es auch ganz im Beginn der Erkrankung vereinzelte Parasiten aufzufinden. Aber dann war auch hier wie in den übrigen Fällen das Suchen nach diesen Gebilden solange vergeblich, als die stürmischen entzündlichen Erscheinungen mit intensiver weinroter Färbung und Schwellung, profuser blutigseröser oder eitriger Absonderung der Schleimhaut anhielten. Erst wenn das klinische Bild im Abklingen begriffen war, wenn die Eiterabsonderung aufzuhören begann, fanden sich reichlich Chlamydozoen. Sie wurden weniger zahlreich mit gesundender Schleimhaut, konnten aber oft, wenn auch nur spärlich, noch dann nachgewiesen werden, wenn die Kinder schon wochenlang als geheilt aus der Behandlung entlassen waren. Dieses Verhalten wird sehr anschaulich durch die Tabelle B illustriert, in der der Befund von Gonokokken und Chlamydozoen und der klinische Befund nebeneinander zusammengestellt ist. Gonokokken und Chlamydozoen gehen sich sozusagen aus dem Wege. Das wird auch der Grund sein, weshalb von manchen Autoren bei der gonorrhoischen Blennorrhöe so wenig positive Ergebnisse mit Chlamydozoen erzielt werden konnten. Auffallend zahlreich waren diese Gebilde im Verein mit Pneumokokken, wie aus den beiden nächsten Fällen hervorgeht. Hier lag es allerdings nahe, mit Rücksicht auf die so chronische Erkrankung zugleich mit dem so reichlichen Chlamydozoenbefund an eine Mischinfektion zu denken. Solange es aber nicht gelingt, durch Ueberimpfung von Chlamydozoen allein klinisch manifeste Symptome unter Ausschluß anderer bekannter Erreger hervorzurufen, müssen wir sie auf Grund der bisherigen klinischen Erfahrungen lediglich für Parasiten halten. Denn die einfachste Erklärung ist auch hier die richtigste, daß nämlich die Pneumokokken, die im Verlauf der Erkrankung wiederholt im Ausstrich und auch kulturell gefunden wurden, die Infektionserreger allein darstellen. Dafür spricht auch der Tod eines dieser Kinder an Pneumonie. Nur unter dieser Annahme kann es für die Schleimhaut gleichgültig sein, wenn sich die Chlamydozoen in solchen Massen in bereits pathologisch veränderten Zellen finden.

Es muß nämlich auffallen, daß in jedem positiven Befunde die Epithelzellen pathologisch verändert sind. Sie sind gequollen, der Kern



ist vergrößert, in Teilung oder in Zerfall begriffen. Die Kerne haben nach der Giemsafärbung einen nicht so saftigen Farbenton, sind heller und rötlich gefärbt. Herzog leugnet zwar diese pathologische Veränderung, aber schon Greeff, Clausen, v. Prowazek, Wolfrum und andere haben diesen Befund bei Trachomuntersuchungen hervorgehoben. Dies ist ein so regelmäßiges Bild, daß man schon mit schwacher Vergrößerung beim ersten Blick auf ein solches Präparat ein positives Ergebnis in Aussicht stellen kann. In manchen der so veränderten Zellen findet man dann die charakteristischen Gebilde in irgend einer Form, aber bei weitem nicht in allen, so daß ich daraus zu schließen wage, die Zellveränderung geht der Chlamydozoeneinwanderung in die Zelle voraus. Die Zellveränderung ist das Primäre und wird verursacht durch die verschiedensten Gifte oder Erreger. Erst auf diesem Boden vermögen die Chlamydozoen zu gedeihen und je nach den oberflächlich oder tiefer gehenden Gewebsveränderungen mehr oder weniger weit bis an die Grenze der gesunden Zellen vorzudringen. Die therapeutischen Schleimhautätzungen bei Trachom rufen nun oberflächlich bald eine Abstoßung und Regeneration der Zellen hervor, die den Chlamydozoen einen geeigneten Nährboden entzieht, bei der Blennorrhöe dagegen ist durch die in die Tiefe vordringenden Gonokokken mit nachfolgender anders gearteter Infiltration auch den Chlamydozoen ein weiteres Vordringen möglich. Ätzungen mit Argentum autricum stoßen daher wohl die oberflächlichen Lagen entzündlicher Gewebsinfiltration ab, an den eigentlichen Herd mit dem Erreger und den Chlamydozoen kommt man erst beim Abheilen des Prozesses, wenn die Sekretion nachläßt. Dementsprechend gelingt es im Beginn und erst wieder nach Ablauf der akuten Erscheinungen bei der Conj. gonorrhoica z. B. die Chlamydozoen zu finden.

Fall 11 und 12 sind typisch für das Vorkommen der Chlamydozoen bei Trachom. Bei dem ersten handelt es sich um ein ganz frisches unbehandeltes Trachom, bei dem zweiten um ein frisches Rezidiv auf einer stark narbig veränderten Konjunktiva. Schon das eigentümliche Verhalten der Chlamydozoen bei Trachom allein könnte nach unseren Befunden ihre Ätiologie für diese Erkrankung zweifelhaft machen. Es erscheint zunächst verdächtig, wie einmütig von allen Untersuchern ausgesagt wird, daß die Chlamydozoen sofort nach einer kurzen spezifischen Behandlung verschwinden, der klinische Befund aber erst nach wochen- oder monatelanger Behandlung sich bessert und ausheilt. Wären sie die Erreger der Erkrankung, sollte man nach allen bisherigen Beispielen mit dem Verschwinden des Erregers auch klinische Heilung finden. Man sollte sie ferner in allen frischen Fällen immer finden. Das geschieht zwar nahezu in den meisten, aber es bleiben doch immer auch bei der größten Ausdauer einige Fälle übrig, in denen auch nicht eine Spur davon zu entdecken ist. Unter 8 frischen unbehandelten Fällen hatten wir z. B. 6mal ein positives Ergebnis, andererseits auch bei 19 chronischen Fällen mit Pannus und Narbenbildung 2 positive Resultate. Und nun erst die so verschiedene Reaktion der Chlamydozoen bei Trachom und Blennorrhoea neonat. auf eine spezifische Behandlung. Im obigen Falle sind bei frischem Trachom nach 3maliger Behandlnng mit dem Cu-Stift sämtliche Chlamydozoen verschwunden, aber heute nach wochenlanger Behandlung ist das Trachom nicht geheilt. Bei einem Fall



von Blennorrhoea neonatorum dagegen, der am 2. X. in die Klinik aufgenommen, 2 mal täglich mit 1 proz. Arg. nitr.-Lösung gepinselt, stündlich mit Chlorwasser und 3 stündlich mit Arg. nitr. $^1/_{1000}$ gespült war, sind noch am 8. XI. (also nach mehr als 5 Wochen) bei der Entlassung „als klinisch gesund“ massenhaft die Chlamydozoen vorhanden. Kann es sich da um die Erreger dieser Erkrankungen handeln?

Nr. 9 stellt einen Fall von Conj. gonorrhoica bei einer 49 jährigen Frau, die sich durch Umschläge mit ihrem eigenen Urin infiziert hatte. Am ersten Tage ihres klinischen Aufenthalts wurden im Ausstrich wie kulturell reichlich Gonokokken zugleich mit Chlamydozoen in beiden Augen festgestellt, nach sofort einsetzender intensiver Behandlung waren letztere hinfort nicht mehr zu finden. Fall 10 zeigt das Vorkommen der Chlamydozoen auch bei Conjunctivitis follicularis einer Schülerin Fall 13 und 14 die Befunde bei Überimpfung des Trachoms von Mensch zu Mensch (früher schon von Greeff veröffentlicht) und bei Ueberimpfung von Säuglingsblenorrhöe auf den Affen.

Also diese Chlamydozoen kommen zunächst auf der Konjunktiva bei den verschiedensten Katarrhen vor, immer in pathologisch veränderten Zellen. Nur selten findet man außer ihnen keinerlei bakterielle Erreger, meist sehr gut bekannte, wie Gonokokken, Pneumokokken, Streptokokken, Diplokokken, Koch-Weeksche Bazillen. Durch Behandlung verschwinden sie beim Trachom sehr bald, bei der Blennorrhoea neonatorum dagegen bleibt die spezielle Therapie oft lange Zeit ohne Einfluß, ja häufig treten sie erst dann in größeren Massen auf. Die Chlamydozoen sind andererseits in katarrhalisch erkrankten Genitalwegen der Eltern von blennorrhöekranken Säuglingen nachzuweisen, auch von dort mit Erfolg auf die Affenkonjunktiva und -vagina überimpft worden, teils mit, teils ohne jede klinische Reaktion. Daraus darf wohl der Schluß gezogen werden, daß von den Genitalien der Mutter die Konjunktiva der Kinder analog der Gonorrhöeübertragung mit Trachomkörperchen infiziert worden ist, nicht aber wie Lindner schließt, daß die Chlamydozoen sowohl die Erreger des **Genital**katarrhs wie des **Konjunktival**katarrhs sind.

Wie Blaha ferner auf dem Kongreß zu Salzburg mitteilte, sind die Chlamydozoen auch beim ansteckenden Scheidenkatarrh des Rindes gefunden. Obwohl wir ihr Vorkommen auch dort nicht für ausgeschlossen halten, scheinen uns dennoch, nach seinen Abbildungen und Präparaten zu urteilen, diese Gebilde nicht zu den in Rede stehenden Chlamydozoen zu gehören.

Es bleibt uns übrig, den Standpunkt derer zu erörtern, die auch heute noch nicht an die Belebtheit dieser Gebilde glauben, und den Standpunkt Herzogs, dessen Entdeckung vor Wochon die Runde durch alle Tagesblätter machte, daß es sich bei den charakteristischen Gebilden um Involutionsformen der Gonokokken handeln solle. Beide Theorien glaube ich auf das bestimmteste verneinen zu dürfen und zwar auf Grund folgender Beobachtung. Heymann sowohl wie wir haben fast gleichzeitig durch zahlreiche Versuche mit Reinkulturen der bekanntesten Erreger von Schleimhautkatarrhen — Gonokokken, Pneumokokken, Diplokokken, Streptokokken — versucht, bei Affen zugleich mit Katarrhen auch die charakteristischen Gebilde zu erzeugen, stets mit demselben negativen Erfolge.



Auch die zum Versuch verwandten Keime wieder aus der Schleimhaut des Affen zu züchten, gelang uns nur bei Pneumokokken. Da also Gonokokken nach allen bisherigen Erfahrungen auf die Konjunktiva der Affen nicht übertragbar sind, wohl aber sehr leicht die Chlamydozoen, erscheint ein Zusammenhang zwischen ihnen ausgeschlossen. Für die Belebtheit dieser Gebilde spricht andererseits das wohl charakterisierte Aussehen im gefärbten und ungefärbten Präparat, weiter daß sie bei Übertragungen auf Affen und Menschen erst nach einer gewissen Zeit wieder auftreten und sich vermehren, daß sie den Kern der Zelle verdrängen und nach Ausfüllung der ganzen Zelle abzuplatten vermögen, endlich daß sie nicht in jeder aufgeblähten Epithelzelle zu finden sind, sondern immer nur in einigen, während ein großer Teil gleichartig veränderter Zellen frei bleibt.

Nach allen Beobachtungen kann es sich daher bei diesen in Konjunktivalerkrankungen gefundenen Chlamydozoen nicht um Degenerationsprodukte der Zellen, aber auch nicht um selbständige Erreger dieser Krankheiten handeln, sondern entweder um gewöhnliche Schmarotzer oder vielleicht auch Mischinfektionserreger im Sinne v. Prowazeks. Auch von anderen Krankheiten mit Chlamydozoenbefund, wissen wir, daß diese häufig mit anderen Infektionserregern zusammen vorkommen, wie z. B. mit dem Variola- und Scharlachchlamydozoen die Streptokokken. In bezug auf die Infektion teilt v. Prowazek die Erscheinungen dieser Symbiose in 3 Gruppen: 1. solche Symbionten, die durch ihre Lebensweise einander gar nicht beeinflussen (indifferente Symbionten); 2. solche, die eine Art von Virulenzsteigerung erfahren und den befallenen Organismus in erhöhtem Maße schädigen (synergetische Symbionten); 3. solche, von denen der eine dem anderen den Nährboden vorbereitet.

In die 2. Gruppe rechnet v. Prowazek die Symbiose zwischen Streptokokken- und Variolavirus, zwischen Streptokokken und dem Scharlacherreger. Eine Symbiose zwischen den sog. Trachomkörperchen erscheint auch uns nicht ausgeschlossen, aber dann doch nur im Sinne der Gruppe 3, daß den Chlamydozoen durch andere Infektionserreger der Nährboden vorbereitet wird. Vorderhand, müssen wir bekennen, wissen wir von diesen Chlamydozoen noch so wenig, daß es geraten erscheint, lieber in aller Stille weiter zu arbeiten und Tatsachen zu sammeln, als Hypothesen aufzustellen, die von heute auf morgen durch einen neuen Befund umgestoßen werden können. Erst die Reinkultur dieser Chlamydozoen, die bislang weder Schiele noch sonst jemandem gelungen ist, wird uns auch in dieser Frage vorwärts bringen.

Vorträge.

I. A. Schuberg und H. Schubotz (Berlin-Groß-Lichterfelde):

Zur Frage der Geflügelpocken.

Die meisten Arbeiten, die sich in neuerer Zeit mit der Untersuchung der Geflügelpocken beschäftigt haben, wurden weniger wegen der wirtschaftlichen Bedeutung dieser Krankheit angestellt — obwohl diese durchaus nicht unterschätzt werden darf —, als vielmehr wegen des theoretischen Interesses, das sie bietet: man glaubte durch ihre Erforschung der Lösung von Fragen, welche uns andere wichtige Krankheiten zurzeit noch aufgeben, näher kommen zu können. Pocken, Molluscum contagiosum und Karzinome schienen Vergleichspunkte mit dem Epithelioma contagiosum der Vögel darzubieten. Der Nachweis, daß das Virus filtrierbar ist, erweckte mit Rücksicht auf die Krankheiten, bei denen dies ebenfalls der Fall ist, Interesse. Schließlich wird die Ansicht vertreten, daß die Erreger der Geflügelpocke zu den „Chlamydozoen" zu stellen seien. Es ist also eine ganze Anzahl der wichtigsten gegenwärtigen Probleme, die in die Erforschung der Geflügelpocke hereinspielen und die Beschäftigung mit ihr um so mehr berechtigt erscheinen lassen, als sich dem experimentellen Arbeiten keinerlei größere Schwierigkeiten entgegenstellen.

Die von uns im Kaiserlichen Gesundheitsamt angestellten Untersuchungen beschäftigen sich vor allem mit den charakteristischen und seit langer Zeit bekannten Zelleinschlüssen, welche in den erkrankten Partien des Epithels auftreten. Als Material dienten uns experimentell erzeugte Pocken von Hühnern, und zwar sowohl vom Kamm wie vom Rachen und Gaumen. Unsere Untersuchungen wurden zum Teil gleichzeitig mit den schon veröffentlichten Versuchen von Uhlenhuth und Manteufel angestellt, durch welche, in Fortsetzung der Versuche von Carnwath, der Nachweis erbracht wurde, daß durch Material von Hühnern, welche „Diphtherie" besitzen, auf der Haut typisches Epithelioma contagiosum und umgekehrt durch Pockenmaterial Diphtherie erzeugt werden kann. Wir können diese Beobachtungen durch zahlreiche Wiederholungen bestätigen und es kann gleich hier hinzugefügt werden, daß die in der Haut, speziell in der Epidermis des Kammes auftretenden Zelleinschlüsse in den erkrankten Partien des Rachens und Gaumens genau in der gleichen Weise vorkommen.

Die äußeren Erscheinungen und der Verlauf der Erkrankung sind schon wiederholt ausführlicher dargestellt worden, so daß wir auf deren Darstellung hier verzichten können. Nur auf einen Punkt, der bisher noch wenig beachtet wurde, sei kurz hingewiesen, nämlich die auch für die Beurteilung des histologischen Bildes wissenswerte Tatsache, daß die Pocken gleichmäßig am Rande weiter wachsen. Zieht man, etwa auf jeder Zacke des Kammes, je einen regelmäßigen, von den andern weit genug entfernten Impfstrich oder geht man von vereinzelten kleinen kreisrunden Impfstellen aus, so kann man die konzentrische periphere Ausbreitung der Pocke deutlich beobachten. Am schönsten trat



sie hervor bei Versuchen, die der eine von uns (Schuberg) zusammen mit Herrn Stabsarzt Kuhn anstellte und über welche dieser selbst noch berichten wird, nämlich bei Uebertragung der Pocken durch Stiche der einheimischen Stechfliege (*Stomoxys calcitrans*); hierbei konnte nachgewiesen werden, daß jeder erfolgreiche Stich von dieser kleinen punktförmigen Impfstelle aus sich zu einer fast regelmäßigen kreisrunden Pocke ausbreitet, die einen Durchmesser bis zu 9 mm erreichen kann; kleine Unregelmäßigkeiten sind wohl durch die Oberflächenskulptur des Hühnerkammes bedingt. Aus dieser Feststellung geht hervor, daß — wie überdies durch die Untersuchung verschieden alter Pocken bestätigt wird — die am Rande der Pocken auftretenden histologischen Veränderungen als Erscheinungen der Entwicklung des Krankheitsbildes und nicht etwa als Zerfallserscheinungen aufgefaßt werden müssen.

Wie bekannt, besteht die charakteristischste gewebliche Veränderung bei den Geflügelpocken in dem Auftreten von Zelleinschlüssen, die eine bedeutende Größe erreichen und die Zelle fast völlig erfüllen können. Hand in Hand mit ihrem Auftreten geht eine bedeutende Vergrößerung und auch eine Vermehrung der einzelnen Zellen. Mitosen, die von manchen Autoren vermißt wurden, finden sich nur an Stellen, wo das Epithel noch nicht allzu sehr verändert ist. In das Bindegewebe sich einsenkende Wucherungen des Epithels haben auch wir beobachtet.

Ueber die Natur der Einschlüsse sind verschiedene Ansichten geäußert worden. Von mancher Seite, zuletzt wohl von Reischauer, wurden sie für Protozoen gehalten, von anderer Seite wurden sie als Haufen von Mikrokokken gedeutet, von dritter Seite, von v. Prowazek, wurden sie als Reaktionsprodukte der in ihnen eingeschlossenen Erreger, also typischer Chlamydozoen, aufgefaßt.

Die frischen, vom lebenden Tier entnommenen und in physiologischer Kochsalzlösung untersuchten „Pockenkörper" — wie wir die Zelleinschlüsse bezeichnen wollen — erscheinen opak und stark lichtbrechend. Membranartige Säume, die von Reischauer beschrieben wurden, und die ihn zur Vermutung veranlaßten, daß es sich um Dauerformen von Protozoen handle, haben wir nicht beobachtet; sie wurden anscheinend durch optische Erscheinungen an der Grenze gegen die Umgebung hervorgerufen. Eine Eigenbewegung besitzen die Pockenkörper nicht; dagegen zeigen sie die Bewegungserscheinungen einer zähen Flüssigkeit und müssen im allgemeinen als Ansammlungen einer solchen bezeichnet werden.

Uebt man mit einer Präpariernadel auf das Deckglas des frischen Präparates einen kräftigeren Druck aus, so kann man oft erreichen, daß die aus verschiedenen Epithelzellen ausgequetschten Pockenkörper zu einer mehr oder weniger großen zähflüssigen Masse sich vereinigen. Dabei sieht man häufig an den Rändern des Gewebestückchens die Flüssigkeit aus den durch Verletzung geöffneten Intercellularräumen des Epithels in ölartigen Tropfen herausperlen und wieder zusammenfließen.

Versuche, durch Zusatz von Reagentien Aufschlüsse über die chemische Natur der flüssigen Substanz der Pockenkörper zu erhalten, führten zu keinem ganz sicheren Ergebnis. Alkalien und Säuren riefen eine mehr oder weniger starke Gerinnung hervor. Setzt man dem frischen Präparate unter dem Deckglase einen Tropfen Schwefelsäure



zu, so bilden sich in den Pockenkörpern — vielleicht durch Flüssigkeitsentziehung — Klumpen, die gelbbraun, später fleischrot werden, sich aber bald wieder entfärben. Millons Reagens färbte sie nicht; durch Osmiumsäure werden sie, wie schon frühere Beobachter feststellten, gebräunt oder geschwärzt. Verdauungsflüssigkeiten, Papayotin (1 g in 20 ccm H_2O) und Pepsin, verändern sie auch nach mehrtägiger Einwirkung im Brutschrank bei 35° nicht merklich.

Behandelt man eine größere Menge reifer, dem Abfallen naher Pocken bei etwa 40° mit Aceton, so nimmt dieses eine schwach gelbliche Färbung an, ein Zeichen, daß jedenfalls Substanzen in Lösung gegangen sind. Versetzt man diese Lösung mit Wasser, so wird sie getrübt und erhält schließlich ein vollständig milchartiges Aussehen. Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß dieses Aussehen durch sehr feine, stärker lichtbrechende Kügelchen hervorgerufen wird, die wohl als Tröpfchen der aus den Pockenkörpern aufgelösten Substanz aufgefaßt werden müssen. Der Versuch, diese Substanz durch längeres Zentrifugieren aus der Acetonwassermischung zu trennen, ist bis jetzt nicht geglückt. Doch sollen diese Versuche, auch nach Verwendung anderer Lösungsmittel, noch fortgesetzt werden, da dies wohl der aussichtsreichste Weg sein dürfte, die betreffende Substanz in einer der chemischen Untersuchung leichter zugänglichen Form zu gewinnen.

Behandelt man frische Pockenkörper unter dem Deckgläschen mit Aceton, so treten in ihnen bald kleinere, allmählich größere Vakuolen auf, ein Beweis dafür, daß Substanzen aufgelöst werden und die bei dem eben erwähnten Verfahren gewonnene Substanz tatsächlich die flüssige Substanz der Pockenkörper darstellt. Saugt man vom Rande des Deckglases aus Wasser durch das Präparat, so findet man zahllose feine und feinste Kügelchen und Körnchen, die anscheinend ihrer Substanz nach mit den aus der Acetonlösung der Pockenkörper durch Wasser ausgefällten Kügelchen identisch sind. In dichter Zusammenlageruug machen diese Körnchen vollständig den Eindruck eines sehr feinkörnigen Gerinnsels. Zerdrückt man, wie oben angegeben, Pockenkörper in Kochsalzlösung oder Wasser, so zeigen sie ebenfalls eine derartige feinkörnige Struktur, während bei Einwirkung verschiedener Fixierungsmittel die Struktur oft mehr einen feinen alveolären Bau zeigt. Ausstrichpräparate, die in der üblichen Weise angefertigt und dann durch Alkohol fixiert werden, geben ein ganz ähnliches Bild wie die unter dem Deckgläschen mit Aceton und dann mit Wasser behandelten Pockenkörper; viele erscheinen im ganzen feinkörnig strukturiert, setzen sich aber dann am Rande in unregelmäßige Massen von dichtgedrängten, feinsten Körnchen fort, so daß es den Anschein hat, als seien aus einer gemeinsamen, zusammenhängenden Masse zahlreiche feinste körnige Elemente gewissermaßen auseinandergestoben.

Diese Tatsachen zeigen, daß sich der Beurteilung nicht nur von Ausstrichpräparaten, sondern auch von Schnitten von fixiertem und eingebettetem Material sehr große Schwierigkeiten entgegenstellen; denn die Veränderungen, welche die hierbei notwendigerweise anzuwendenden Reagentien in den Pockenkörpern hervorrufen, erschweren in hohem Maße zu beurteilen, wieviel von den beobachteten Erscheinungen auf diese Reagentienwirkung zurückgeführt werden muß und welche Strukturen,

Körner usw. andererseits als schon im Leben vorhanden anerkannt werden müssen.

Die Pockenkörper der äußeren Zellschichten des Epithels sind, wie sich auf Schnittpräparaten leicht feststellen läßt und wie auch schon von früheren Beobachtern gefunden wurde, die größten; sie sind meist nur in der Einzahl vorhanden und erfüllen die sehr stark vergrößerte Zelle fast vollständig. Ohne auf die zum Teil nicht ganz übereinstimmenden Angaben früherer Untersucher einzugehen, was hier zu weit führen würde, sei nur folgendes festgestellt. Die Struktur der Pockenkörper erscheint bei den mit verschiedenen Fixierungsmitteln behandelten Präparaten nicht immer völlig gleich, kann aber auch im gleichen Präparat an verschiedenen Stellen Unterschiede aufweisen, die zum Teil ebenfalls auf Wirkung der Reagentien zurückzuführen sind. Häufig erscheinen sie vakuolisiert, hohl oder sind geradezu ganz schattenhaft geworden, Erscheinungen, die zum Teil auf die oben beschriebenen Veränderungen bei der Fixierung, zum Teil auf Lösungsvorgänge zurückzuführen sind. Eine große Anzahl von Schnitten wurden nach der von Schuberg angegebenen Modifikation der Giemsamethode mit Aceton behandelt; es wirkte aber auch die bei der Einbettung und Schnittpräparation verwendete Chloroform- und Xylolbehandlung anscheinend in ähnlichem Sinne auflösend auf die Pockenkörper wie Aceton. Bei manchen Methoden erscheinen diese wie aus zahlreichen größeren Alveolen oder einzelnen Kugeln zusammengesetzt, „maulbeerförmig“, wie schon von anderen Beobachtern zutreffend bemerkt wurde.

Schon frühere Untersucher haben angegeben, daß man in jüngeren Stadien der Pockenerkrankung, bzw. in den die ersten Zeichen der Erkrankung zeigenden Zellen mehrere kleinere, bläschen- oder tröpfchenartige Einschlüsse findet. Wir können diese Beobachtung durchaus bestätigen. Es gelang schon vom 2. und 3. Tage nach der Impfung in den Zellen der nächsten Umgebung der Impfstelle diese kleinen bläschenartigen Einschlüsse nachzuweisen, die sich besonders durch ihre Färbung mit verschiedenen sauren Farbstoffen sehr leicht darstellen lassen. Nachdem es uns gelungen ist, am frischen Objekt festzustellen, daß die Pockenkörper eine zähflüssige Beschaffenheit besitzen, kann wohl kaum noch bezweifelt werden, daß diese durch Zusammenfließen der kleineren Bläschen oder Tröpfchen zustande kommen, wie schon einige frühere Beobachter vermutet haben.

Auch in Präparaten, in denen die Pockenkörper der äußeren Schichten stark vakuolisiert oder feinkörnig erscheinen, ist diese Erscheinung bei den jungen und mittleren Stadien weniger oder gar nicht zu beobachten; sie wird erst mit der Vergrößerung der Pockenkörper deutlich.

In demselben Maße, wie die Pockenkörper wachsen, verändert sich die Struktur des Kernes und des Protoplasmas der Epithelzelle, zunächst vor allem die letztere.

Die Plasmastruktur gesunder Epithelzellen ist sehr fein alveolär. Sie wird aber grobmaschiger bei dem Auftreten der Pockenkörper und lockert sich allmählich sehr stark auf. Die Auflockerung geht schließlich so weit, daß eine fibrilläre Struktur vorgetäuscht werden kann, die aber in Wirklichkeit durch die erhalten gebliebenen gleichgerichteten Wände von reihenweise angeordneten, stark vergrößerten Waben hervor-

gerufen wird. Durch Vermittelung der Interzellularlücken kann der Anschein erweckt werden, als erstreckten sich die Fibrillen, ähnlich den von Herxheimer beschriebenen Fasern der Säugetierepidermis, durch mehrere Zellen hindurch. Bei noch älteren Stadien der Erkrankung der Zellen scheinen die einzelnen dünnen Wabenwände oder Fasern zu zerreißen und bilden dadurch unregelmäßig netzige krümelige Massen, die den letzten Rest des Protoplasmas darstellen. Solange noch Protoplasma vorhanden ist, füllen die Pockenkörper die Zelle nicht vollständig aus, sondern liegen als gesonderte Gebilde innerhalb des veränderten Protoplasmagerüstes. Sie bilden jedoch nicht etwa einfach den Inhalt der vergrößerten Protoplasmaalveolen, sondern liegen wie Zellkerne mitten in der Zelle, neben dem wirklichen Zellkern. Beide Erscheinungen, Bildung der Pockenkörper und Vergröberung der Protoplasmastruktur, gehen parallel nebeneinanderher, ohne daß ohne weiteres klar ist, ob und in welcher Beziehung sie zueinander stehen.

Die Veränderungen der Kerne erkrankter Epidermiszellen bestehen vor allem darin, daß sie an Größe zunehmen, unter Undeutlichwerden des Liningerüstes kompakter werden, daß die Membran schrumpft und daß sie schließlich in den äußeren Zellschichten verschwinden. Es besteht jedoch keine Berechtigung, alle diese Erscheinungen ohne weiteres auf Rechnung des Krankheitsprozesses zu setzen, da die äußersten Zellschichten, ungeachtet der pathologischen Veränderungen, Anzeichen der Verhornung zeigen und sich, wie in der normalen Epidermis, von den untern, nicht verhornten Schichten ziemlich scharf absetzen.

Außer den schon lange bekannten Pockenkörpern fanden wir in den erkrankten Epidermiszellen der mittleren Schichten bisher anscheinend unbekannte Gebilde, die sich wesentlich anders färben als die Pockenkörper. Während sich die letzteren besonders mit sauren Farben färben, sehr schön z. B., wie schon erwähnt, durch Säurefuchsin oder durch Eosin — letzteres auch bei Giemsafärbung — werden diese Gebilde durch Kernfarben scharf und bestimmt hervorgehoben, so durch Eisenhämatoxylin nach Weigert wie nach Heidenhain. Besonders auffällig ist aber ihr Aussehen in gut gelungenen Giemsapräparaten, denn in diesen nehmen sie einen tief dunkelpurpurroten Ton an, von der Farbe etwa wie die Blepharoblasten in gut gelungenen Trypanosomenpräparaten. Die Form, Größe und Anordnung dieser Gebilde ist ziemlich mannigfaltig. Die Größe der kleinsten von uns gesehenen Einschlüsse dieser Art liegt an der Grenze des Sichtbaren, zwischen $^1/_4$ bis $^1/_2$ μ und zwar sind derartig winzige Körnchen stets in Mehrzahl vorhanden. Häufig liegen sie reihenweise hintereinander, manchmal sind sie sogar wie die Kugeln eines Rosenkranzes aneinandergereiht, so daß das Ganze auffallend an einen Streptokokkenfaden erinnert. Andere, im gleichen Farbentone erscheinende Gebilde sind mehr strangartig geformt oder zu förmlichen Klumpen zusammengeknäuelt. Diese Gebilde sind stets intrazellulär und liegen häufig in oder an größeren Zelleinschlüssen, welche den Pockenkörpern in mancher Hinsicht gleichen, sich aber bei Giemsafärbung in der Regel durch eine blaßviolette Färbung von deren eosinrotem Farbenton unterscheiden; diese größeren Einschlüsse sind den Pockenkörpern oft kappenartig aufgelagert, was ebenso wie die andersartige Färbung dafür spricht, daß sie mit diesen nicht identisch sind.

Es erscheint uns in hohem Maße wahrscheinlich, daß die geschilderten,



durch Giemsalösung purpurrot gefärbten Gebilde ihrer Natur nach alle zusammengehören. Welche Bedeutung ihnen aber zukommt, vermögen wir bis jetzt nicht zu sagen. Es liegt natürlich nahe anzunehmen, daß sie aus dem Kerne stammen; doch sprechen hierfür keinerlei Beobachtungen. Die Kerne färben sich, auch in den gleichen Zellen, welche die betreffenden Einschlüsse enthalten, mit Giemsalösung stets blau; ist einmal ein Kern zerfallen und in einzelne Bestandteile aufgelöst, was wir gelegentlich beobachteten, so ist die Färbung keine andere. Auch topographische Beziehungen zum Kerne ließen sich nicht nachweisen; die Gebilde liegen fast stets weit vom Kerne entfernt, oft auf der entgegengesetzten Seite, von diesem durch den großen Pockenkörper getrennt. Es liegt also zurzeit keinerlei Beweis dafür vor, daß sie aus dem Kerne stammen, zumal dieser oft anscheinend noch fast völlig intakt ist.

Sehr verlockend war der Gedanke, diese Gebilde mit dem Virus in Beziehung zu bringen. Indessen läßt sich auch hierüber eine einigermaßen durch Beweise gestützte Meinung nicht äußern. Was dagegen zu sprechen scheint, ist ihre so unregelmäßige äußere Gestalt; man müßte höchstens annehmen, daß die größeren, unregelmäßigen Klumpen durch Zusammenballung der kleinen körnchenartigen Elemente zustande kommen. Ferner muß betont werden, daß sie sowohl in den Zellen, welche noch ganz kleine Pockenkörper enthalten, wie in denen der äußeren Zellschichten, welche von den großen ausgebildeten Pockenkörpern erfüllt sind, bis jetzt niemals von uns nachgewiesen werden konnten. Ein bestimmtes Urteil über sie zu fällen, ist bis jetzt noch nicht möglich.

Leider sind unsere Ergebnisse auch hinsichtlich der anderen Zelleinschlüsse noch keine ganz endgültig aufklärenden. Immerhin glauben wir, besonders in Beziehung auf früher geäußerte Ansichten folgendes mit Bestimmtheit vertreten zu können.

Die zähflüssige Beschaffenheit wie die wenigstens teilweise Löslichkeit der reifen Pockenkörper widerlegt endgültig die Anschauung, daß die Pockenkörper selbst Protozoen sein könnten.

Ein Teil des Pockenkörpers ist löslich, so daß die Zusammensetzung aus mehreren, mindestens zwei Substanzen wahrscheinlich ist, wie auch schon frühere Beobachter annahmen. Daß nicht der ganze Pockenkörper löslich ist, scheint deshalb glaubhaft, weil auch nach längerer Behandlung mit geeigneten Lösungsmitteln Bestandteile übrig bleiben. Ueber deren Natur etwas Bestimmtes auszusagen, ist aber zurzeit nicht möglich, da nicht nur die Bestandteile unter der Einwirkung der Reagentien verändert werden, sondern auch die lösbare Substanz aus der Lösung — schon durch Wasser — ausgefällt werden kann. Es fehlen daher zurzeit jegliche Anhaltspunkte, um sicher zu beurteilen, welcher Natur die in den irgendwie präparierten Pockenkörpern enthaltenen Körnchen sind; sie können sowohl primäre Gerinnungs- oder Ausfällungsprodukte der löslichen Substanz sein; als auch nachträgliche Ausfällungen der während der Präparation zeitweise in gelöstem Zustande vorhandenen, noch nicht nach außen diffundierten Substanz. Ebensowohl ist es denkbar, daß sie Ausfällungen der durch Aceton, Xylol usw. nicht lösbaren Substanz sind, über deren Zustand im frischen Objekt nichts ausgesagt werden kann. Zur Begründung hierfür muß auf die oben geschilderten Versuche an frischen Pockenkörpern verwiesen werden. Andererseits können die Körnchen ebensogut im Leben vorhanden sein und nur aus



optischen Gründen unsichtbar bleiben. Aber selbst wenn dies der Fall ist, bestehen keinerlei Beweise dafür, daß diese Körnchen belebter Natur sind, oder daß sie, im Sinne des Prowazekschen Chlamydozoenbegriffs, die von einem „Reaktionsprodukt" der erkrankten Zelle umhüllten Erreger der Krankheit darstellen. Hiergegen spricht sogar vor allem die Tatsache, daß die Körnchen in den jüngsten und kleinsten Pockenkörpern bis jetzt nicht erkennbar waren. Da die im Präparat gefärbten Körnchen älterer Pockenkörper sich färberisch von den intakten oder alveolären und bläschenförmigen jungen Pockenkörpern nicht unterscheiden und wie diese durch saure Farben gefärbt werden, so spricht auch keine färberische Eigenschaft in bestimmter Weise für ihre Erregernatur.

Wieweit die von anderen Beobachtern beschriebenen „Körnchen" mit den in Schnitten und Ausstrichen von uns beobachteten Gebilden übereinstimmen, läßt sich in Kürze nicht bestimmt beurteilen. Für die von Borrel, Burnet und Lipschütz auf Ausstrichpräparaten beobachteten Körnchen und kokkenartigen Gebilde bestehen die von uns oben gekennzeichneten Fehlerquellen, und das gleiche dürfte für die von Prowazek und Beaurepaire Aragao durch Colloidfiltration gewonnenen Gebilde zutreffen. Ueber die von Bordet aus Geflügeldiphtherie von Tauben gezüchteten Elemente ein Urteil zu fällen, ist nicht möglich, da von diesem Material keine histologischen Untersuchungen vorliegen.

Zum Schlusse muß vor allem betont werden, daß der Nachweis, daß die Erreger der Geflügelpocken „Chlamydozoen" im Sinne Prowazeks darstellen, nicht erbracht ist und daß alle derartigen Untersuchungen nur unter genauester Berücksichtigung der feinsten cytologischen Verhältnisse ausgeführt werden dürfen, wenn sie nicht den sicheren Boden der Tatsachen verlassen wollen. Prowazek hat kürzlich betont: „Die Chlamydozoenforschung ist nicht abgeschlossen." Das ist gewiß richtig! Es mag auch richtig sein, daß die Morphologie im Stiche läßt bei „Erregern, die alle rund, körnchenartig sind, die gebräuchlichen Filter passieren und meist die Größe von ca. $^1/_4$ μ besitzen". Wir glauben aber doch, daß man zunächst den Nachweis erbringen muß, daß solche Gebilde tatsächlich die gesuchten „Erreger" und daß sie wirklich „belebt" sind.

Diskussion zu den Referaten und dem Vortrag Nr. I.

Bruno Heymann (Breslau): Die Herren Referenten haben über meine Untersuchungen in so ausführlicher Weise berichtet, daß mir kaum noch etwas zu sagen bleibt. Ich will mich daher nur auf wenige Worte beschränken.

Obwohl ich stets bemüht war, in meinen Veröffentlichungen recht deutlich zu sein, bin ich von einigen Seiten doch mißverstanden worden. Ich habe nie die Möglichkeit in Abrede gestellt, daß die v. Prowazek und Halberstädter beim Trachom gefundenen Gebilde die Erreger sein könnten, aber einen sicheren Beweis hierfür haben sie bisher nicht erbracht, und haben wir auch heute nicht gehört. Wenn Herr Hartmann berichtet, daß in gewissen pflanzlichen Zellen ganz ähnliche Gebilde vorkämen, deren parasitäre Natur sicher sei, so ist dies gewiß beachtenswert, aber doch kein Beweis für die ätiologische Bedeutung auch unserer Gebilde. Und wenn er ferner zugunsten seiner Auffassung anführt, daß in der gesamten Cytologie niederer und höherer Tiere solche Gebilde als Zellbestandteile unbekannt seien, so läßt sich dagegen einwenden, daß das Studium normaler und vor allem pathologisch affizierter Zellen vermittels der Giemsafärbung noch nicht ausgedehnt genug ist, um darauf



ein abschließendes Urteil zu begründen. Zustimmen will ich Herrn Hartmann gern, wenn er die Deutung der fraglichen Gebilde als Erreger der Krankheit für die einfachste Hypothese anspricht. Aber mehr als eine Hypothese ist es eben nicht, und da vermutlich eine Kultur leider nicht so leicht gelingen wird, und Filtrate doch stets nur einen unsicheren Notbehelf darstellen, so müssen wir uns vor der Hand bescheiden und nach Hilfsmomenten suchen, die diese Hypothese etwa noch stützen. Aber, meine Herren, solche Momente versagen: Die Körperchen sind beim Trachom weder konstant anzutreffen, noch für dasselbe spezifisch. Wir finden sie durchaus nicht bei allen Trachomen, nicht einmal bei allen frischen, unbehandelten Fällen. Andererseits sind sie auch bei sicher nicht trachomatösen Konjunktivitiden, sowohl bei solchen mit bekannten Erregern, namentlich mit Gonokokken, als auch — und dies möchte ich Herrn Flemming gegenüber betonen — bei solchen, wo wir keinen Anhaltspunkt für die ursächliche Beteiligung von Bakterien haben. Die Gebilde kommen aber sogar auch im Genitalapparat Erwachsener vor. Diese Befunde im Verein mit der Tatsache, daß die einschlußhaltigen Genitalsekrete dieselben Krankheitserscheinungen auf der Affenkonjunktiva hervorrufen, wie die Augensekrete, legen uns die Fragen nahe, ob das Trachom und die nicht trachomatösen Einschlußaffektionen identisch sind, oder ob wir zwei verschiedene, wenn auch mit morphologisch gleichen Einschlüssen einhergehende Krankheiten vor uns haben, oder ob wir es endlich mit einer einzigen neuen Gruppe zusammengehöriger Krankheiten zu tun haben, deren Virus seinen primären Sitz im Genitalapparat hat und sich gelegentlich als Mischinfektion dem Trachom beigesellt. Meine Herren! In meiner letzten Veröffentlichung (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 15) habe ich das Für und Wider dieser drei Hypothesen ausführlich erörtert. Ich möchte hier nur kurz erwähnen, daß gegen die Identität des Trachoms mit den Neugeborenenkonjunktivitiden die offenbare Häufigkeit der letzteren in meiner Heimatstadt Breslau spricht, wo nur 21 Trachomfälle pro Jahr in der einheimischen Bevölkerung gemeldet werden, und ferner die Beobachtung, daß bei den mit einschlußhaltigem Augensekret Neugeborener und mit Genitalsekret Erwachsener geimpften Affen unzweifelhaft trachomartige Bilder bisher nicht aufgetreten sind. Immerhin haben sich Angehörige namhafter ophthalmologischer Schulen bereits für die Identität ausgesprochen. Dann aber müßten wir auch mit der Lokalisation des Trachomvirus im Genitalapparat rechnen, und Lindner, ein Schüler von Fuchs in Wien, scheut sich auch nicht, bereits vom „Trachom der Genitalwege“ zu sprechen. — Gegen die Auffassung, daß es sich um zwei verschiedene Virusarten trotz morphologischer Identität der Erreger handele, eine Auffassung, die v. Prowazek und Halberstädter zuerst vertraten, jetzt aber aufgegeben haben, spricht die Inkonstanz der Körperchen beim Trachom und die Unsicherheit des Affenversuchs mit sicher trachomatösem Material.

Nach den bisher vorliegenden Versuchen scheint es mir, meine Herren, als ob trachomatöses Material nur dann einen positiven Impfeffekt gäbe, wenn die Einschlüsse vorhanden sind. Sollte sich dies in weiteren Versuchen an einem großen Material bestätigen, so müßten wir schließen, daß die Körperchen mit dem Trachom überhaupt nichts zu tun haben, sondern — gleichviel ob sie die Erreger darstellen oder nicht — ein dem Trachom fremdes Virus dokumentieren, das seinen primären Sitz im Genitalapparat hat. Damit, meine Herren, stehen wir aber vor einem höchst bedeutsamen Problem, nämlich vor der Möglichkeit der Aufdeckung eines neuen, im Genitalapparat ansiedlungsfähigen Virus. Ich glaube, daß die Erforschung dieser epidemiologischen Fragen weit aussichtsvoller ist, als die Ergründung, was die Zelleinschlüsse eigentlich bedeuten. Wie langsam solche Studien zum Ziele führen, haben wir ja an den Negrischen Körperchen erlebt, die schon seit Jahren bekannt, aufs eifrigste studiert und noch immer unverstanden sind. Dagegen sind die Wege zur weiteren Klärung der epidemiologischen Beziehungen zwischen Trachom und nicht trachomatösen Einschlußaffektionen jetzt deutlich vorgezeichnet und wirklich erfolgversprechend. Durch Feststellung der Frequenz der Einschlußaffektionen in trachomverseuchten und trachomfreien Gegenden, durch Uebertragung von einschlußhaltigem, nicht trachomatösem Material auf Affen und, — eventuell von diesen aus, — wenn es die Verhältnisse gestatten, auf Menschen, vor allem durch Impfung von Affen mit einschlußfreiem Material von frischen, sicheren Trachomfällen müssen wir meines Erachtens eine Antwort darauf erhalten, ob das Trachom auch genital infektiös ist, oder ob ein neuartiges Virus in den Augen Neugeborener und im Genitalapparat ihrer Eltern gefunden ist.

Und nun noch ein Wort zu den Blahaschen Körperchen: Der ansteckende Scheidenkatarrh der Rinder hatte durch die auffälligen Analogien, die er in der Tat in mancherlei Hinsicht mit dem Trachom aufweist, schon lange meine Aufmerksamkeit



erweckt. Ich habe eine größere Anzahl kranker und normaler Kühe untersucht und die von Blaha beobachteten Körperchen gleichfalls gefunden, kann aber eine Uebereinstimmung mit den Prowazekschen Körperchen nicht konstatieren. Nun hat Blaha selbst, mit dem ich hierüber korrespondiert habe, und der mir diese Mitteilung gestattet hat, zwar seine Arbeit mit dem Titel „Ansteckender Scheidenkatarrh der Rinder und „Trachomkörperchen" bzw. Prowazeksche Körperchen (Chlamydozoen) bei demselben" überschrieben, verwahrt sich brieflich aber dagegen, daß er die von ihm gefundenen Gebilde mit den Trachomkörperchen identifiziere. Ich selbst habe bisher auch in Blahaschen Originalpräparaten noch keine Gebilde gefunden, die charakteristisch genug waren, um sie mit Sicherheit von ganz ähnlichen, in Präparaten normaler Kühe vorkommenden zu unterscheiden.

Czaplewski (Köln): Da ich im vergangenen Jahre eine vorläufige Mitteilung zur Frage der unsichtbaren Virusarten veröffentlicht habe, während die ausführliche Mitteilung aus äußeren Gründen verschoben werden mußte, fühle ich Ihnen gegenüber bei Erörterung des heutigen Themas die Verpflichtung, Ihnen Näheres zunächst über die benutzte Methode und einige damit erhaltene Resultate mitzuteilen.

Die Methode ist eine Modifikation und Weiterbildung der Nakanishischen Färbemethode und stellt im wesentlichen eine **vitale polychromatische Minimalfärbung** dar. Von den benutzten Farbstoffen hat sich mir am besten Boraxmethylenblau bewährt. Das Verfahren selbst ist sehr einfach. Auf sauber geputztem und durch mehrfaches Flambieren sterilisiertem Objektträger wird eine sehr dünne Schicht der Farbstofflösung ausgestrichen und angetrocknet. Der bestrichene Objektträger wird durch nochmaliges Flambieren sterilisiert und umgekehrt angelehnt. Auf ein rein geputztes, ebenfalls durch Flambieren sterilisiertes Deckgläschen kommt dann ein sehr kleines Tröpfchen des zu untersuchenden Materials (am besten stets in Originalflüssigkeit aufgeschwemmt). Das so präparierte Deckgläschen wird dann auf die angetrocknete dünne Farbschicht gelegt, so daß sich das kleine Tröpfchen zwischen Objektträger und Deckglas ausbreitet, wobei es sich meist deutlich blau färbt. Um Verdunstung zu verhüten, wird der Rand des Deckgläschens mit Deckglaskitt dick umzogen. Als solcher hat sich mir eine Mischung von Colophonium und Wachs am besten bewährt. Gerade das zufällig benutzte Boraxmethylenblau, welches ja eine äußerst kräftig wirkende und daher schon in geringsten Verdünnungen scharf färbende Farbstofflösung darstellt, bewährte sich am besten, insofern es vielfach sehr hübsche einzeitige polychromatische Färbungen lieferte. Hierbei traten wie bei der Giemsafärbung alle möglichen Nuancen von rein blau über violett bis zu dunkelkirschrot auf. Dabei färbt die Methode äußerst distinkt und liefert dadurch in Bakterien und anderen niederen Organismen und Zellen zahlreiche feinste Details, weil der sehr verdünnte Farbstoff langsam und allmählich von den verschiedenen Zellbestandteilen aufgenommen wird. Bakterien bleiben dabei zum Teil trotz Annahme der Färbung beweglich. Andere Farbstoffe und auch andere Methylenblaulösungen lieferten nicht gleich gute Resultate. Neutralrot war für manche Fälle, z. B. Amöben brauchbar. Mein Mitarbeiter Herr Kollege Meirowsky, dem ich die Methode mitteilte, versuchte auf gleiche Weise auch Spirochäten, speziell die *Spirochaete pallida* darzustellen, ohne jedoch damit zum Ziele zu kommen. Er erreichte jedoch eine tadellose Violettfärbung der Pallida, als er luetische Primäraffekte, Papeln usw. wund rieb und mit Methylviolett einrieb und das Reizserum absaugte. In diesem waren die *Sp. pallida* lebend und beweglich scharf gefärbt. Es gelang mir dann aber auch, mit einer kleinen Modifikation meiner Methode die Spirochäten mit Violett darzustellen.

Die von mir oben beschriebene Methode färbt nun in verschieden langer Zeit. Um das Fortschreiten der Färbung zu verfolgen, habe ich mit einer größeren Zahl (6—10) Mikroskope gleichzeitig gearbeitet, unter denen markante Stellen eingestellt tagelang stehen blieben und von Zeit zu Zeit photographiert wurden.

Durch die eintretende scharfe und distinkte Färbung vermag die Methode die bei ungefärbten Objekten vielfach sehr schwierige Erkennung und Differenzierung zu ermöglichen. Auch hatte ich den Eindruck, daß sie durch die Färbung Körperchen und Strukturen sichtbar zu machen vermag, die ohne Färbung wegen gleicher Lichtbrechung mit der Flüssigkeit, in welcher sie liegen, unsichtbar waren.

Da bei den studierten Objekten Protozoen- und Sporenzustände in Frage kamen, versuchte ich, wie sich echte anerkannte Protozoen und Schimmelpilzsporen dazu verhielten. Es konnten nun damit in der Tat bei Halteridien der Taube und Amöbenkulturen, ferner tropischer Amöbendysenterie sehr schöne und distinkte Färbungen

erzielt werden. Auch Trypanosomen und Coccidien ließen sich damit färben.[1] Bezüglich der Schimmelpilzsporen zeigte sich, daß die Färbung, wie erwartet, sehr ungleichmäßig und verschieden langsam in die Sporen eindringt. Durch wiederholte mikrophotographische Aufnahme ein und derselben Stelle des Präparates wurde nachgewiesen, daß nach Tagen eine ganze Zahl von Sporen ungefärbt geblieben ist. Diese Beobachtungen geben eine gute Illustration zu den Ausführungen von Prof. Reichenbach. Man muß also bei der Beobachtung dieser Färbung Geduld haben und bemerkenswerte Stellen tagelang eingestellt lassen und beobachten.

Leider hat auch diese Methode ihre Fehlerquellen, die man durch sorgfältige Beobachtung erkennen und beachten muß. Dieselben sind bedingt namentlich durch Veränderung und Zerfall der zelligen Elemente, insbesondere der roten Blutkörperchen und Leukocyten und durch Fibrinbildung sowie durch Krystallbildungen (Methylenblau usw.).

Ich muß zum Schluß betonen, daß die Methode ein weiteres und wie es scheint, für gewisse Zwecke sehr brauchbares Arbeitsmittel darstellt, daß aber die Beurteilung der gefundenen Resultate sehr schwierig ist, weil die erhaltenen Bilder durchaus ungewohnt sind, so daß man sich in ihr Verständnis erst einarbeiten muß, und weil es sich dabei sozusagen um Neuland handelt.

Czaplewski demonstrierte dann eine größere Zahl von farbigen Abbildungen nach Präparaten seines Mitarbeiters Dr. Meirowsky-Köln mit dem ihm von C. mitgeteilten Färbeverfahren bei Schimmelpilzen usw.

Dieselben betrafen:

1. Sporotrichose. 2. Hefeartige Formen aus Comedo, welche M. auch züchten konnte. Dieselben dürften mit den von Unna und seinen Schülern als „Flaschenbazillen“ bezeichneten Gebilden identisch sein. Es sind aber keine Bazillen, sondern Hefeformen. 3. Hefeartige Formen aus Molluscum contagiosum; 4. Pityriasis versicolor; 5. Menschenfavus; 6. Mäusefavus; 7. Mikrosporon Audouini; 8. Trichophyton niveum; 9. Soor.

Alle Bilder zeigten durch die gefundenen feinen Details die Vorzüge der Methode.

Die Demonstration der zahlreichen Diapositive von Cz. wurde abgebrochen, weil die Versammlung auf Wunsch des Vorsitzenden Herrn Geh. Rat Fraenkel sich für Projektion derselben entschied.

Lipschütz (Wien) pflichtet den Ausführungen Hartmanns bei und glaubt, daß eine ersprießliche Förderung der Chlamydozoenforschung nur durch Heranziehen eines reichlichen, von den verschiedenen hier in Betracht kommenden Krankheiten stammenden Materiales zu erwarten sei. Vor allem weist Lipschütz darauf hin, daß beispielsweise beim Molluscum contagiosum eine vollkommene Uebereinstimmung zwischen nativer Untersuchung, gefärbtem Ausstrich und Schnittpräparat sich nachweisen läßt. Selbstverständlich können wir heute die Chlamydozoenfrage noch nicht für gelöst halten, immerhin glaubt Lipschütz, daß der richtige Weg beschritten worden ist.

Ferner macht Lipschütz auf einen interessanten biologischen Vorgang aufmerksam, der bei Vaccine zuerst von Calmette und Guérin, bei der Taubenpocke von Burnet und Lipschütz experimentell nachgewiesen werden konnte, nämlich die spezifische, maximal gesteigerte Avidität dieser Virusarten ausschließlich zum Hautorgan. Aehnliches haben Löffler und Frosch für die Maul- und Klauenseuche nachgewiesen. Lipschütz schlägt für diesen Vorgang die Bezeichnung Dermotropismus vor. Auf Grund des Studiums des Dermotropismus und der durch die klinische Beobachtung bei Psoriasis vulgaris und bei Lichen ruber planus von Köbner und anderen nachgewiesenen Reizphänomenen der Haut (sogenanntes Köbnersches Phänomen), möchte Lipschütz auch bei den genannten menschlichen Hautaffektionen Dermotropismus ihres Erregers supponieren. Auf Grund dieser Anschauungen seit Jahresfrist ausgeführte mikroskopische Untersuchungen haben bei Psoriasis vulgaris zu Befunden geführt, die in den Rahmen der bei Vaccine und Taubenpocke gemachten Befunde hineinzupassen scheinen. Lipschütz behält sich vor, über die Psoriasis-Untersuchungen später ausführlich zu berichten.

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Inzwischen hatte ich Gelegenheit, auch bei den Hämogregarinen der Schildkröte und bei menschlicher Malaria die Brauchbarkeit der Methode nachzuweisen. Vielleicht läßt sich diese Methode auch zu diagnostischen Zwecken bei Malaria verwerten, da die erhaltenen Bilder sehr scharf und klar sind.

Jacobsthal (Hamburg): Die Methode der Komplementablenkung hat bisher widersprechende Resultate ergeben, wenn es sich darum handelte, Beziehungen zwischen dem vermuteten Erreger von Variola und Vaccine und dem erkrankten Organismus aufzudecken. Das lag daran, daß man bisher nicht das geeignete Antigen benutzte. Paschen und ich haben deswegen als Antigen den gesammelten Inhalt von Vaccinepusteln vom Kinde vor Beginn der Eiterung benutzt. Diese Pusteln enthalten nach Paschens Ansicht den Erreger in Reinkultur. Wir benutzten das Antigen in den Verdünnungen $\frac{1}{75}$ u. $\frac{1}{150}$, das Serum 1:9 inaktiv. Meerschweinchenserum 1:9, Hammelkaninchenambozeptor 1 $^1/_4$ fach lösend. Bei vaccinierten Kaninchen erhielten wir einwandfreie positive Resultate, bei vaccinierten Kindern waren die Resultate sicher nicht ganz eindeutig. Untersuchungen über Ovine und Variolavaccine als Antigen sind im Gange. Die Befunde sprechen für die ätiologische Bedeutung der in den Vaccinepusteln gefundenen Paschenschen Körnchen.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Zur Frage der Geflügelpocken möchte ich bemerken, daß sich auch bei weiteren Untersuchungen die von mir und meinen Mitarbeitern Carnwath und Manteufel im Kaiserl. Gesundheitsamt experimentell fundierte Annahme der Identität von Geflügelpocken und Hühnerdiphtherie bestätigt hat. Aus allen Teilen Deutschlands, neuerdings auch wieder aus Nürnberg haben wir klinische Geflügeldiphtherie auf den Kamm von Hühnern überimpft und regelmäßig Geflügelpocken erzielt (näheres siehe Uhlenhuth und Manteufel, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXXIII, 2, 1910). Die Untersuchungen, die von Schuberg und Schubotz in meiner Abteilung ausgeführt sind, bringen eine weitere Bestätigung unserer Auffassung, denn sie konnten auch in dem diphtherischen Rachenbelag die für die Geflügelpocken charakteristischen Zelleinschlüsse nachweisen. Es ist nunmehr sicher erwiesen, daß die so häufig seuchenhaft auftretende Geflügelkrankheit lediglich Geflügelpocke ist; der Beweis dafür, daß es eine bakterielle Diphtherie gibt, steht noch aus. Das filtrierbare Virus der Geflügelpocke ist nach unseren mit Schern ausgeführten Versuchen sehr resistent gegen Antiformin. In 24 Stunden war es in 10proz. Antiformin nicht sicher abgetötet, das Vaccinevirus ist schon in 1proz. Lösung nach kurzer Zeit vernichtet (Uhlenhuth, Friedberger).

Das sind interessante Unterschiede. Man kann das Antiformin benutzen, um das unbekannte Virus biologisch zu studieren. Da Antiformin alle Bakterien auflöst mit Ausnahme der säurefesten Stäbchen, so geben derartige Untersuchungen Aussicht, Aufschluß über die Natur des Virus zu bekommen. Ich selbst habe mit Antiformin behandeltes Material von Geflügelpocken nach Ziehl gefärbt, bisher aber kein eindeutiges Resultat erhalten.

Aehnliche Studien sind von mir und meinen Mitarbeitern früher mit Antiformin bei dem Schweinepestvirus angestellt worden.

Es hat sich gezeigt, daß auch dieses Virus im Gegensatz zum *Bac. suipestifer* dem Antiformin gegenüber sehr widerstandsfähig ist; das Pestvirus nach $^1/_2$—1stündiger Einwirkung von Chlorkalkmilch (1:5 und 1:20) und 6proz. Kresolseifenlösung sicher abgetötet.

Die Untersuchungen mit Antiformin bei der Geflügelpocke hatten auch den Zweck, bakterienfreies Material zu erhalten, ebenso wollten wir das bei Vaccine erreichen. Man kann durch Neutralisation nach Einwirkung des Antiformins zum Ziele kommen.

Ob das von Bordet gezüchtete Virus der Hühnerdiphtherie mit dem Erreger der Geflügelpocke identisch ist, würde man mit dem Antiformin entscheiden können, leider hat mir Bordet seine Kultur der Hühnerdiphtherie bisher nicht zur Verfügung stellen können. Es würde dann aus der vergleichsreichen Resistenzprüfung dem Antiformin gegenüber auf die ätiologische Bedeutung des Bordetschen Bazillus geschlossen werden können.

Auf die Frage von Pfeiffer: Ich habe mikroskopisch noch nicht festgestellt, ob die sog. Chlamydozoen durch Antiformin aufgelöst werden, diese Untersuchungen sind aber in die Wege geleitet. Ich habe erst in der letzten Zeit mit diesen Versuchen begonnen.

Neufeld (Groß-Lichterfelde) hat in Gemeinschaft mit Dr. Böing bei einigen Fällen nicht gonorrhoischer Blenorrhoe bei Neugeborenen die Prowazekschen Einschlüsse gefunden. Bei zweimaliger Untersuchung eines unbehandelten Trachomfalles



wurden die Einschlüsse vermißt, dagegen ergab die Verimpfung auf einen Makaken dieselbe typische Follikelbildung wie die gleichzeitige Verimpfung des Sekrets einer Blennorrhöe. In bezug auf die Deutung der Befunde stimmen die Untersucher der Ansicht von Herrn Hartmann bei, daß zur Zeit eine sichere Entscheidung zwischen den drei von Heymann in seiner letzten Arbeit skizzierten Hypothesen nicht möglich ist. Insbesondere ist die Möglichkeit, daß die Einschlüsse die Erreger der Blennorrhöe sind und bei Trachomfällen nur als Mischinfektionserreger vorkommen, erst dann auszuschließen, wenn recht zahlreiche Trachomfälle mit positivem Ergebnis untersucht sein werden; hierbei sollte möglichst ausgedehnter Gebrauch von der Affenimpfung gemacht werden, die vielleicht oft, wie in unserem Trachomfalle, sich als feineres Reagens wie die mikroskopische Untersuchung erweist.

Daß, wie Herr Flemming hervorgehoben hat, die Veränderungen am Affenauge nicht völlig dem menschlichen Trachom gleichen ist zuzugeben, aber wohl nicht überraschend; die Syphilis der Affen zeigt z. B. noch größere Verschiedenheit von der menschlichen Syphilis

Sehr unwahrscheinlich erscheint die von Herrn Flemming begründete Annahme, daß die Prowazekschen Körperchen höchstens als sekundäre Infektionserreger anzusehen seien, als eigentliche Erreger dagegen die in vielen Fällen von Blennorrhöe und Katarrh gleichzeitig den gefundenen Pneumokokken oder Diplokokken, die doch auf normalen Schleimhäuten häufig vorkommen. Wenn eins der von Herrn Flemming beobachteten Kinder an Pneumonie gestorben ist, so ist daraus doch kein Anhaltspunkt für die Annahme herzuleiten, daß die Augenaffektion dieses Kindes durch Pneumokokken bedingt gewesen ist.

Sicher bedarf die Bedeutung der Prowazek-Halberstädterschen Parasiten noch weiterer Aufklärung; im Gegensatz zu der kürzlich von Greeff vertretenen Anschauung darf aber die endgültige Lösung der Trachomfrage wohl am ehesten auf dem von Prowazek und Halberstädter, Lindner, Heymann gewiesenen Wege erwartet werden.

Daß sich die Einschlüsse bei Blennorrhöe oft noch lange nach der Heilung finden, ist natürlich nicht gegen ihre ätiologische Rolle zu verwerten. Ebensowenig wäre es verwunderlich, wenn sich ergeben würde, daß ätiologisch eine Reihe von Krankheiten zum Trachom gehören, die wir klinisch bisher nicht dazu gerechnet haben, ähnlich ist es ja bei anderen Infektionskrankheiten nach Entdeckung des Erregers gegangen.

Czaplewski (Köln a. Rh.) demonstrierte sodann mit Projektion Diapositive von nach seiner Methode gefärbten Präparaten.

Dieselben betrafen:

I. Vaccine (Cytoryctes-, Siegelring-, fragliche Merozoitenformen, kleine und riesengroße Amöbenformen, fragliche Spermatozoiten- und Sichelcystenformen).

II. Lyssa (a) kleinste, den Babes-Jos. Kochschen Körperchen entsprechende Körperchen; b) große Cystenformen mit zackigen Membranen ungeplatzt und geplatzt; c) Negrische Körperchen [im Schnitt, im Innern mit sichelförmigen Körperchen bei Lentzscher Färbung]; d) sporenförmige Formen entsprechend Negris erster Mitteilung; e) fragliche Sichelcysten).

III. Verschiedene Färbungen von Amöbenreinkulturen mit sehr deutlicher Differenzierung.

IV. Vital gefärbte Halteridien der Taube in verschiedenen Stadien.

V. Die langsam fortschreitende Färbung von Schimmelpilzsporen in verschiedenen Aufnahmen derselben Stelle des Präparats.

Sticker (Berlin): Ich stehe auch auf dem Standpunkt der Identität der Geflügelpocke und Geflügeldiphtherie. Beobachtungen und Ueberlegungen führten mich dazu. Die Geflügelpocke verläuft selten tödlich, die Geflügeldiphtherie oft. Warum schließt sich an die Pockenerkrankung keine diphtherische Erkrankung, warum an die diphtherische Erkrankung keine Pockenerkrankung an? Weil eine auch bei anderen Krankheiten beobachtete Art von Zonenimmunität sich geltend macht. Ist einmal die äußere Haut umfangreich in den Erkrankungsprozeß hineingezogen, so bleibt die Schleimhaut unversehrt und umgekehrt.

Auf eine interessante symbiotische Erscheinung möchte ich noch die Aufmerksamkeit lenken. In Fällen von seuchenhaftem Sterben bei geflügelpockenkranken Hühnern konnte ich in dem unter der Pockenkruste sich vorfindenden klaren Serum Reinkulturen von



Geflügelcholera finden. Nun sperren wir die Grenze gegen die Geflügelcholera, gegen Geflügelpocke nicht. Es liegt hier die Gefahr der okkulten Einschleppung einer sehr verheerenden Seuche vor.

Bruno Heymann (Breslau): Wie großen Wert ich — in Uebereinstimmung mit Herrn Neufeld — auf den Affenversuch lege, habe ich vorhin bereits kurz angedeutet. Von besonderer Beweiskraft scheinen mir Impfungen mit Material von ganz frischen, einschlußfreien, sicheren Trachomfällen zu sein. Einen solchen Versuch habe ich erst vor einigen Wochen machen können. Es handelte sich um einen Herrn aus Warschau, den mir Herr Geh. Rat Uhthoff aus seiner Privatpraxis freundlichst zugewiesen hatte. Der Patient litt seit einigen Jahren auf dem linken Auge an einem schweren Trachom, das bereits zur Pannusbildung geführt hatte, während das rechte völlig verschont geblieben war. Vor einigen Wochen nun erschien er mit einem ganz frischen, 4 Tage alten, unbehandelten Trachom des rechten Auges. Mehrfache mikroskopische Untersuchungen auf Prowazek-Halberstädtersche Körperchen negativ, Affenversuch gleichfalls negativ! — Solche Versuche, meine Herren, müssen in möglichst ausgedehntem Maße gemacht werden. Führen sie in erheblicher Zahl zu dem gleichen negativen Ergebnis, wie der eben berichtete, so wird — ich wiederhole es — meines Erachtens der Schluß zwingend, daß die Zelleinschlüsse mit dem Trachom nichts zu tun haben, sondern ein ihm fremdes Virus dokumentieren, das seinen primären Sitz im Genitalapparat hat.

(Redner demonstrierte am 21. V. 10 vormittags im Kais. Gesundheitsamt noch Präparate von menschlicher und experimenteller Einschlußkonjunktivitis und von Vaginalsekret mit von Prowazekschen Körperchen.)

Schubotz (Groß-Lichterfelde) betont gegenüber Lipschütz, daß die von ihm und Schuberg bei ihren Untersuchungen der Geflügelpocke angewandten Methoden sich auf frisches Material, Ausstriche und mit verschiedensten Mitteln fixierte und gefärbte Schnittpräparate bezogen. Von der Färbung der Ausstriche nach Löffler wurde nur deshalb abgesehen, weil Lipschütz selbst die ihm zuerst gelungene Färbung der Körnchen mittelst Giemsalösung als einen Fortschritt bezeichnete gegenüber der ursprünglichen von Borrel angewandten Löfflerschen Geißelbeize. Die Vermutung, die feinsten von Borrel, Burnet und Lipschütz für die Erreger angesehenen Körnchen der Pockenkörper könnten Gerinnungsprodukte sein, bezieht sich natürlich nur auf das Epithelioma contagiosum der Hühner. Vorausgesetzt aber, daß die Körnchen ursprüngliche und nicht durch Präparation hervorgerufene Komponenten der Pockenkörper sind, so besteht immer noch die Forderung nachzuweisen, daß sie erstens Organismen, d. h. selbständige, belebte Wesen und zweitens die Erreger sind. Beide Nachweise stehen noch aus.

Flemming (Berlin) (Schlußwort): Herrn Neufeld möchte ich erwidern, daß ich Follikelbildung in der Affenkonjunktiva als Zeichen der positiven Trachomimpfung sofort anerkennen werde, wenn neben oder nach der Follikelbildung narbige Veränderungen der Konjunktiva eintreten. Das ist aber in den erwähnten Fällen nicht der Fall gewesen, und sie sind deshalb nicht beweisend. Ich möchte Herrn Neufeld gegenüber ferner meinen Standpunkt über die Bedeutung der Trachomkörperchen nochmals dahin zusammenfassen, daß ich bisher jede selbständige pathogene Wirkung derselben leugne. Es ist auch heute nicht ein Moment erbracht, das diese Annahme stützen könnte. Das lange Verweilen der Trachomkörperchen in der Konjunktiva nach der klinischen Abheilung halte ich nicht für einen strikten Beweis meiner Ansicht, wohl aber für einen Stützpunkt.



II. R. Kraus (Wien):

Ueber Poliomyelitis acuta.

Berichtet über Versuche, die Poliomyelitis an Kaninchen zu erzeugen. Durch (zerebrale peritoneale) Impfung mit Virus von an Poliomyelitis verwendeten Makaken läßt sich ein ziemlich charakteristisches Krankheitsbild bei Kaninchen hervorrufen. Auch Passagen von Kaninchen auf Kaninchen gelingen. Trotzdem auch Berkefeldfiltrate sich als wirksam erwiesen haben, gelang die Ueberimpfung auf Affen nicht. Bei der histologischen Untersuchung des Gehirns und Rückenmarks der Kaninchen findet man die charakteristischen perivaskulären Infiltrationen, wie sie bei Makaken gefunden werden, ebenfalls nicht. Es ist ja möglich, daß diese Versuche die Uebertragbarkeit des Virus auf Kaninchen wahrscheinlich machen, als bewiesen kann aber die Uebertragbarkeit auf Kaninchen bisher nicht angesehen werden.

Im weiteren bespricht Vortragender über fortgesetzte Versuche, mittels einmaliger subkutaner Injektion carbol. Virus von Makaken gegen eine nachträgliche zerebrale Infektion zu schützen (präventive Schutzimpfung).

III. Lentz und Huntemüller (Berlin):

Ueber akute epidemische Kinderlähmung.

Wir möchten Ihnen über Versuche berichten, die wir im Institut für Infektionskrankheiten hauptsächlich mit Kinderlähmungsmaterial aus Hagen angestellt haben.

Es wurden uns von Krause und Meinicke, die ja schon zum Teil über unsere Befunde berichtet haben, geimpfte Tiere zugesandt, während die Paralleltiere in Hagen weiter beobachtet wurden.

Die Kaninchen gingen etwa nach 7—11 Tagen meist ohne besondere Symptome ein. Manchmal dauerte die Inkubationszeit länger, einmal sogar 2 Monate.

Zu den Weiterimpfungen wurden nur solche Tiere verwandt, deren Organe sich auf unseren Bakteriennährböden als steril erwiesen hatten.

Die Tiere, die nicht akut ohne Befund zugrunde gingen, gingen später meist an Pneumonie oder Seuche ein.

Zu den Versuchen sind nur junge Kaninchen von etwa 600 g, jedenfalls nicht über 1000 g geeignet.

Die Infektion gelingt am sichersten intravenös oder intraperitoneal mit Gehirn- oder Rückenmarksemulsion, die durch Berkefeldfilter filtriert wurde. Die Inkubationszeit war gegenüber den Kaninchen,



die mit unfiltriertem Material geimpft waren, meist um 1—2 Tage abgekürzt.

Die schnellere Wirkung führen wir auf den Fortfall der Phagocytose zurück. Selbst die durch Papierfilter geschickte Emulsion enthält eine große Menge kleiner korpuskulärer Elemente, die in die Bauchhöhle injiziert, eine Ansammlung von Leukocyten herbeiführen. Nimmt man 24 Stunden nach der Injektion mit der Glaskapillare nach Isaeff einige Tropfen Peritonealexsudat, so findet man bei den mit unfiltriertem Material behandelten Tieren eine große Menge Leukocyten, bei Verwendung von Filtrat sind Leukocyten nach 24 Stunden kaum nachweisbar.

Auf Krämpfe und Lähmungen bei Kaninchen möchte ich kein besonderes Gewicht legen. Wir haben Kaninchen an Krämpfen eingehen sehen, die frisch auf die Abteilung gebracht waren, auch bei Weiterimpfungen von diesen Tieren zeigten sich hin und wieder Krämpfe. Dagegen war der pathologische Befund ein anderer.

Wir haben auch von diesen Kaninchen Präparate von Gehirn und Rückenmark aufgestellt, die völlig normale Verhältnisse bieten.

Bei den an Poliomyelitis zugrunde gegangenen Kaninchen findet sich makroskopisch nur sehr wenig. Der Darm ist stets leicht injiziert, Milz klein, blaß. Gehirn und Rückenmark meist hyperämisch.

Mikroskopisch ist der Befund oft auch sehr gering. Doch findet sich häufig im Zentralnervensystem starke Gefäßinjektion, Blutungen und Degeneration von Zellen, besonders im Gehirn. Vielfach sieht man in den degenerierten Ganglienzellen eine kleinzellige Infiltration. Eine Infiltration um die Gefäße und in die Gerüstsubstanz, wie bei menschlicher Poliomyelitis und bei Affen konnten wir nicht nachweisen.

Dieselben Befunde gaben Impfungen mit Virus aus Wien und Marburg, das uns von Herrn Landsteiner und Herrn Römer in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde. Auch mit diesem Virus gelang die Infektion von Kaninchen prompt, und ebenso die Uebertragung von Kaninchen auf Kaninchen durch mehrere Passagen.

Auf unsere Affenversuche möchten wir nur kurz eingehen. Von mit menschlichem Material geimpften Affen gingen zwei nach 7 Tagen mit dem Parallelkaninchen zugleich ein. Bei einem war Weiterimpfung auf Kaninchen möglich, der pathologisch-histologische Befund negativ.

Von einem dritten Fall (Lahm) gelang in Hagen von der zweiten und hier in Berlin von der ersten Kaninchenpassage eine Ueberimpfung auf Affen. Die Hagener Affen gingen unter Lähmungen ein. Bei unseren konnten wir wiederholt kurzdauernde Lähmungen in Zwischenräumen von 2—4 Wochen beobachten. Ein Affe ging nach 2 Attacken, von denen er sich erholt hatte, marantisch ein, ein anderer wurde im Anfall getötet, von diesem gelang Weiterimpfung auf Kaninchen. Ein von dem ersteren geimpfter Affe zeigte leichte Lähmung der Hinterhand nach 17 tägiger Inkubation.

Das in 50 proz. Glyzerin längere Zeit aufbewahrte Virus scheint eine Abschwächung zu erleiden. Kaninchen wie Affen erkrankten entweder gar nicht oder nicht mehr so prompt.

Das Filtrat des Affen VIII Hagen und XXI Wien, im Verhältnis von 1:5 Bouillon zugesetzt, ergab Trübung, die nicht durch Bakterien



hervorgerufen war, Weiterimpfung auf Ascites- oder Serumbouillon war erfolglos.

Wir möchten noch auf einen Befund hinweisen, den wir bei Affen gemacht haben. Zwei Affen, die mit Marburger Virus infiziert waren, zeigten am 7. (subdural geimpft) resp. 8. (i. p. geimpft) Tage ein Schwellung des Auges und starke Lichtscheu. Dasselbe Bild zeigte ein Affe aus der Wiener Passage, der am nächsten Tage an Lähmungen erkrankte, sowie ein gelähmter Affe am Tage vor dem Exitus.

Eine Verimpfung des Konjunktivalsekrets auf das Auge eines gesunden Affen war negativ.

Diskussion:

Landsteiner (Wien) hat bei zahlreichen mit Levaditi vorgenommenen Versuchen an Kaninchen nur in einem Falle hochgradige histologische Veränderungen gesehen (Demonstration), geringere in einem zweiten Falle. Mehrere male gingen Kaninchen nach Einimpfung von Poliomyelitisvirus zugrunde, aber es bestand keine Möglichkeit im einzelnen Falle sicher festzustellen, ob wirklich eine gelungene Infektion vorliege. Kaninchen werden erst dann gut verwendbare Versuchstiere sein, wenn scharfe Kriterien für die Erkennung der spezifischen Infektion aufgefunden sein werden. Daher kommt es, daß die sicheren Resultate über das Poliomyelitisvirus bis jetzt nur an Affen gewonnen werden konnten, bei denen die klinischen und anatomischen Erscheinungen vollkommen typisch und nicht zu verkennen sind.

Daß eine Poliomyelitisinfektion am Kaninchen vorkommt, soll nicht bestritten werden und ist nach den Resultaten von L. und H. wahrscheinlich, jedoch bestehen noch vielfache Unklarheiten und Widersprüche in den publizierten Befunden und es kann leicht sein, daß nur ein Teil derselben wirklich die ihnen zugeschriebene Bedeutung besitzt. So sind die hier geäußerten skeptischen bzw. zur Vorsicht mahnenden Bemerkungen von Roemer, Kraus, Neißer, Selter wohl berechtigt. Es geht demnach nicht an, auf Grund von Befunden bezüglich der Natur des Virus (z. B. dessen Filtrierbarkeit), die zu einer Zeit vor völliger Verifizierung des Kaninchenvirus erhoben wurden, Prioritätsansprüche zu erheben oder gar zu behaupten, es sei durch die ersten unsicheren Kaninchenversuche von Krause und Meinicke die Poliomyelitis erst als infektiöse Erkrankung sicher erkannt worden.

Herrn Meinicke repliziert Landsteiner, daß die Behauptung, er habe die Möglichkeit, Kaninchen zu infizieren, in Abrede gestellt, unrichtig ist; L. hat diese Möglichkeit vielmehr ausdrücklich offen gelassen. Auch hat L. nicht, wie M. behauptet, angegeben, daß in den späteren Affenpassagen keine perivaskulären Infiltrate im Rückenmark zu beobachten seien, sondern nur, daß hier die sehr auffallenden Leukocyteninfiltrationen der Ganglienzellen mehr in den Vordergrund treten. Es ist auch nicht richtig, daß Flexner und Lewis eine definitive Abschwächung des Virus im Laufe der Passagen behauptet haben; diese Abschwächung beobachten sie nur bei manchen Passagen und die Autoren geben, was Meinicke anzuführen unterließ, ausdrücklich an, daß ihr Virus am Ende der Versuche hochvirulent war. Ebenso hat Meinicke nicht angeführt, daß Leiner und Wiesner durch Abimpfung von den Affen mit protrahiertem Krankheitsverlauf wieder ganz typische Infektionen erzielten.

Eine Reihe von Punkten sind bei den vorliegenden Kaninchenexperimenten noch unaufgeklärt. So sind bei den von Meinicke angestellten Abimpfungen von Kaninchen auf Affen anscheinend niemals typische Resultate erhalten worden und es ist ganz ungewiß, was für eine Erkrankung eigentlich bei diesen Affen bestand. Kraus konnte mit Kaninchenmaterial Affen überhaupt nicht infizieren.

Es ist auch nicht leicht zu verstehen, daß in den Versuchen von Krause und Meinicke Blut und Liquor cerebrospinalis ebenso virulent waren wie Rückenmarkssubstanz, was für den Affenversuch nicht gilt. Hier waren nur einzelne Versuche mit den genannten Materialien positiv, während dem Nervensystem offenbar eine viel höhere Virulenz zukommt.

Was die ausgestellten Kaninchenpräparate betrifft, so sind die Veränderungen nur sehr geringfügig und an dem Rückenmarkspräparat der Affen von Lentz und Huntemüller (Infektion mit Kaninchenmaterial) sind keine charakteristischen Veränderungen vorhanden, wie sonst immer bei den erkrankten Affen, so daß die Diagnose auf Polio-



myelitis nach diesem Präparate nicht gemacht werden kann und nicht wahrscheinlich ist. Aehnliche Bilder sah L. auch bei sicher nicht an Poliomyelitis erkrankten Tieren.

Die von Krause und Meinicke behaupteten Einflüsse der Rassendifferenz bezüglich der Empfänglichkeit der Kaninchen sind nicht in einwandfreien Parallelversuchen festgestellt worden.

Bezüglich chemotherapeutischer Versuche mit Arsenikalien kann L. nur über negative Resultate berichten.

Römer (Marburg): Die von Flexner und Lewis gemachten Andeutungen über eine eventuelle Züchtbarkeit des Virus habe ich bisher nicht bestätigen können. Bei Verwendung sowohl von Nährböden, die genau nach den Angaben der amerikanischen Autoren hergestellt waren als allen möglichen anderen Modifikationen der gewöhnlichen Nährböden, haben wir negative Resultate gehabt.

Im Gegensatz zu Herrn Huntemüller haben wir uns von einer abschwächenden Wirkung des Glyzerins nicht überzeugen können. 142 Tage lang in konzentriertem Glyzerin, 94 Tage in 50proz. Glyzerin konserviertes Virus erwies sich noch vollvirulent.

Was die Verbreitungsweise des Poliomyelitisvirus betrifft, so kommen lymphogene und hämatogene Entstehung der Veränderungen im Zentralnervensystem in Frage. Die Möglichkeit einer lymphogenen Entstehung der Poliomyelitis scheint mir tierexperimentell sichergestellt. Insbesondere die Untersuchungen Leiners und v. Wiesners haben das gezeigt. (Auftreten der ersten Lähmungen an solchen Extremitäten, deren entsprechende Rückenmarkspartie der Infektionsstelle am nächsten lag.) In Bestätigung der Angaben dieser Autoren kann ich auch mitteilen, daß Joseph und ich in höchst auffallender Weise nach intracerebraler Impfung in der Gegend der linken Zentralmündungen den Beginn der Lähmungen an den rechten Extremitäten sahen. Das spricht in der Tat für eine Verbreitung des Virus auf den (perineuralen) Lymphwegen. Wir müssen aber auch an die Möglichkeit einer hämatogenen Verbreitung des Virus denken, auf Grund eines Versuchsresultats, das wir kürzlich erzielten.

Ein intracerebral geimpfter Affe erkrankte, wie wir das häufiger sahen, neben den charakteristischen Lähmungen auch an Durchfall. Bei der Sektion fand sich starke Schwellung der Follikel, der Peyerschen Plaques und der Mesenterialdrüsen. Die Mesenterialdrüsen erwiesen sich stark virushaltig. Ich kann es mir nicht anders vorstellen, als daß hämatogen die Infektion der Drüsen stattgefunden hat. Zugleich fordert dieser Befund zur Vorsicht bei der Auffassung der beim Menschen beobachteten initialen Durchfälle in dem Sinne auf, daß deshalb im Magendarmkanal die Eintrittspforte des Virus liege. Es wäre nicht unmöglich, daß die Durchfälle rein symptomatische Bedeutung im Sinne eines sekundären Symptoms haben.

Zur Schutzimpfungsfrage nur die kurze sachliche Mitteilung, daß Mischungen von antikörperhaltigem Serum und Virus in unseren Versuchen beim Affen Immunität erzeugten. Persönlich möchte ich hinzufügen, daß die praktische Bedeutung solcher Immunisierungsversuche nicht allzu hoch anzuschlagen ist bei allem wissenschaftlichem Interesse, das sie beanspruchen. Denn da glücklicherweise ja nur ein geringer Teil der Kinder in Epidemiezeiten von der Lähmung befallen wird, werden sich verständlicherweise kaum Eltern bereit finden, ihre gesunden Kinder schutzimpfen zu lassen. Es muß aber zum mindesten völlige Unschädlichkeit des Impfstoffs sichergestellt sein.

Die Skepsis des Herrn Kraus, betreffend die Bewertung der Kaninchenversuche kann ich nur unterstreichen. Nach der ersten Mitteilung der Herren Krause und Meinicke schien es, als ob das Kaninchen ganz allgemein ein für die experimentelle Poliomyelitisforschung sehr geeignetes Versuchstier sei. Das kann als widerlegt gelten. Nach ihren eigenen Angaben bezeichnen Krause und Meinicke nun nur noch gewisse Rassen der Kaninchen als geeignet und unter diesen nur ganz junge Tiere und diese auch nur, wenn ihnen große Dosen beigebracht werden. Ob unter diesen Bedingungen das Kaninchen wirklich geeignet ist, muß weiterer Forschung vorbehalten bleiben. Wir haben entsprechende Nachprüfungen in Gang gebracht. Was bisher als Beweise für die Empfänglichkeit der Kaninchen beigebracht ist, kann ich nicht anerkennen. Die von den Herren Lentz und Huntemüller aufgestellten Präparate können mich auch nicht überzeugen. Derartige Befunde würde ich beim Affen für negativ halten und die Weiterimpfung solchen Materials hat der negativen histologischen Diagnose bisher stets Recht gegeben. Eine Behauptung der Herren Krause und Meinicke muß aber zurückgewiesen werden; das Kaninchen soll — wenigstens bestimmte Rassen derselben — mindestens ebenso empfänglich, ja noch



empfänglicher sein als der Affe! Dabei erzielte ich bei meinem intracerebral geimpften Affen in 92 Proz., Flexner sogar in 95 Proz. aller Impfungen positive Resultate.

Endlich sind die Krankheitserscheinungen bei den geimpften Kaninchen und besonders bei den Affen, die mit diesem angeblichen Kaninchenvirus geimpft waren, so eigenartig und ungewöhnlich, daß auch das zur Skepsis mahnt.

Niemand würde freudiger die Geeignetheit des Kaninchens als Versuchstier für die Poliomyelitis anerkennen als ich, nachdem ich die vielen Leiden beim Arbeiten mit einem so teuren, so schwer zu haltenden und — last not least — gelegentlich so ungemütlichen Versuchstier, wie es der Affe ist, zur Genüge erfahren habe. Vorläufig kann ich mich aber zu dieser Ansicht nicht bekehren. So glaube ich, daß Landsteiners Versuch, der die Uebertragbarkeit der Poliomyelitisvirus auf den Affen lehrte, den Beginn einer neuen Aera in der Poliomyelitisforschung bedeutet und wiederhole, wie kürzlich auf dem Kongreß für innere Medizin zu Wiesbaden, daß der Name Landsteiner mit der Geschichte der Poliomyelitisforschung dauernd verknüpft bleiben wird.

Neißer (Frankfurt a. M.) betont die Unzuverlässigkeit der Kaninchenversuche, zumal für Uebertragung des originären Materials vom Menschen auf das Kaninchen und erwähnt einen scheinbar positiven Kaninchenbefund nach Impfung mit Menschenmaterial, der aber unbeweisend ist, da später auch bei 2 anderen, nicht mit solchem Material geimpften Kaninchen ganz ähnliche Erscheinungen auftraten.

Meinicke (Hagen): Die von Krause und mir im Herbst vorigen Jahres veröffentlichten Untersuchungen über akute epidemische Kinderlähmung standen in einem doppelten Gegensatz zu den Versuchen anderer Autoren. Einmal war es anderen Untersuchern überhaupt nicht gelungen, Kaninchen zu infizieren und zweitens standen die von uns mit den Kaninchenimpfungen erzielten Resultate, nämlich der Nachweis der Infektiosität von Blut, Milz und Lumbalflüssigkeit im Widerspruch zu den durchaus negativen Befunden der anderen Autoren. Unsere Versuche wurden daher ablehnend aufgenommen. Mittlerweile haben nun Dahm, Kraus, Levaditi und Landsteiner u. a. Kaninchen mit Poliomyelitismaterial infizieren können. Besonders wertvoll sind in dieser Beziehung die bestätigenden Befunde von Lentz und Huntemüller. Außerdem ist es Flexner und Lewis gelungen, das Virus in Blut und Lumbalflüssigkeit intracerebral geimpfter Affen, auch einmal in der Mesenterialdrüse eines Kindes nachzuweisen. Unsere Behauptung, daß das Virus nicht nur im Zentralnervensystem, sondern auch im Blut und den inneren Organen enthalten sei, hat daher eine Bestätigung gefunden.

Schwierigkeiten bereitet nur noch der Umstand, daß in den Kaninchen- und den von ihnen ausgehenden Affenpassagen die klinischen und pathologisch-histologischen Veränderungen nicht so ausgesprochen und typisch sind wie in den direkt mit menschlichem Material angelegten Affenpassagen. Auch scheint sich das Virus im Kaninchenkörper abzuschwächen. Dazu ist zu bemerken: Flexner und Lewis haben neuerdings auch von einer Abschwächung im Affenkörper berichtet. Leiner und v. Wiesner, sowie Landsteiner und Prasek legen in ihren letzten Arbeiten bei den histologischen Befunden nicht mehr das Hauptgewicht auf perivaskuläre Infiltrationen, sondern auf Hyperämie, Blutungen, Degeneration der Nervenzellen und Neuronophagie, also auf Veränderungen, wie Lentz und Huntemüller und wir selbst sie in unseren Kaninchen- und Affenpassagen nachgewiesen haben. Es ist ja auch gar nicht zu verlangen, daß das anatomische Bild beim Kaninchen in allen Punkten mit dem beim Menschen übereinstimmt. Man kann Meerschweinchen z. B. mit Typhus- und Cholerabazillen infizieren und niemand wird behaupten wollen, daß das erzielte Krankheitsbild dem menschlichen Typhus und der Cholera entspräche. Daran, daß die Meerschweinchen aber einer Infektion mit Typhusbazillen resp. Cholerabazillen erliegen, zweifelt niemand, ebensowenig daran, daß wir die Immunitätsverhältnisse dieser Krankheiten im Meerschweinchenversuch studieren können. So ist auch das Kaninchen ein durchaus geeignetes Versuchstier für Poliomyelitisversuche, wenn sich das klinische und pathologisch-histologische Bild der Infektion auch nicht in allen Punkten mit dem der menschlichen Kinderlähmung deckt. Gewiß liegt da eine Schwierigkeit. Aber auch der Affe hat seine Nachteile; vor allem ist er für Massenuntersuchungen zu kostspielig. Das Arbeiten mit Affen führt daher leicht dazu, aus einem einzigen Versuche weitgehende Schlußfolgerungen zu ziehen. So verwendet z. B. Römer den Versuch mit seinen Affen 30 und 31 einmal im Sinne einer Abtötung des Poliomyelitisvirus durch spezifisches Serum, ein andermal schließt er aus demselben Versuch nur eine Abschwächung.



Selter (Bonn): Bei 3 Fällen von Poliomyelitis gelang es Finkler und Selter, im Hygienischen Institut in Bonn Streptokokken zu züchten, die nur auf Ascitesagar wuchsen und eine gewisse Aehnlichkeit mit dem *Streptococcus mucosus* zeigten. Obwohl wir diesem Befund nach der Entdeckung Landsteiners keine ätiologische Bedeutung mehr zumessen konnten, erschien uns doch das häufige Vorkommen von Streptokokken in der Cerebrospinalflüssigkeit Poliomyelitiskranker während des Fieberstadiums bemerkenswert, zumal auch Potpeschnigg in Graz bei 14 fiebernden Fällen ähnliche Streptokokken nachweisen konnte. Es wäre doch möglich, daß diese Streptokokken eine gewisse, wenn auch nur sekundäre, Rolle spielen und sollte bei weiteren Untersuchungen hierauf geachtet werden. Mit den isolierten Streptokokken stellten wir nun eine Reihe von Tierexperimenten an, in dem wir sie intraperitoneal, intralumbal und subdural Kaninchen und Affen injizierten. Ein Kaninchen subdural geimpft ging am nächsten Tage ein. Von der zerriebenen und mit etwas Kochsalzlösung verdünnten Gehirnmasse wurde $^1/_2$ ccm einem anderen Kaninchen subdural beigebracht. Dieses Tier bekam nach 2 Tagen Zuckungen. Nach 8 Tagen wurde der Kopf nach links gedreht gehalten. Das Tier lief, aus dem Käfig genommen, im Kreis herum (Reitbahnbewegungen). Nach 10 Tagen zeigte es deutliche Paresen der Extremitäten. Das Tier erholte sich nach längerer Zeit wieder, hat daher bis jetzt die einseitige Lähmung der Halsmuskulatur behalten. In einem zweiten Versuch impften wir 3 Kaninchen subdural mit 0,1 ccm Streptokokkenkultur, 0,1 ccm Streptokokken in normalem Kaninchenhirnverrieben, 0,1 ccm Kaninchenhirn allein. Drei weitere Kaninchen erhielten je 0,5 ccm derselben Mischungen intralumbal. Die Kaninchen, welche Streptokokken oder Kaninchenhirn allein bekommen hatten, blieben gesund. Das Kaninchen mit 0,5 ccm Streptokokken + Gehirn intralumbal wies nach 7 Tagen ataktische Lähmungen der Kopfmuskulatur und der Extremitäten auf; es konnte nicht mehr laufen und fiel aufgerichtet sofort auf die Seite. Das Tier wurde 4 Tage später getötet; die Streptokokken konnten nicht mehr nachgewiesen werden. Das Kaninchen mit 0,1 ccm Streptokokken + Gehirn subdural bekam nach 4 Tagen Opistothonus, nach weiteren 2 Tagen ebenfalls ataktische Lähmungen des Kopfes und der Extremitäten. Die Lähmungen verschwanden nach etwa 10 Tagen. Man sieht aus diesen Versuchen, daß man in einer Beurteilung der Lähmungserscheinungen bei Kaninchen sehr vorsichtig sein muß. Ich möchte mich deshalb auch gegen eine Bemerkung von Prof. Krause in einer Sitzung der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde wenden, daß es möglich sein würde, die Diagnose Poliomyelitis durch Verimpfen von Blut oder Lumbalflüssigkeit auf Kaninchen zu stellen.[1]) Wir selbst haben in 3 Fällen die Lumbalflüssigkeit von Poliomyelitiskranken auf Affen und Kaninchen verimpft, ohne jedoch ein positives Resultat erzielt zu haben.

Lentz (Berlin): Gegenüber dem Hinweis auf das Vorkommen einer Erkrankung von Kaninchen an Lähmungen und Krämpfen, die mit Poliomyelitis nichts zu tun haben, möchte ich hervorheben, daß wir bei den Kaninchen, die uns, ohne daß sie mit Poliomyelitisgift behandelt waren, unter derartigen Erscheinungen eingingen, keine Veränderungen am Zentralnervensystem haben nachweisen können; die von ihrem Gehirn und Rückenmark gefertigten mikroskopischen Präparate zeigen absolut normale Verhältnisse. Im Gegensatz dazu haben wir bei den an Poliomyelitis eingegangenen Kaninchen außer den starken Hyperämien und Hämorrhagien, vor allem auch Atrophie der Ganglienzellen und Infiltrationen um die Ganglienzellen herum gefunden, die den Eindruck erwecken, als ob die atrophierende Ganglienzelle von den Rundzellen aufgefressen würde, also Bilder, wie sie bei der menschlichen Poliomyelitis häufig gefunden werden. Wenn bei unseren Kaninchen die für die menschliche Erkrankung so charakte-

[1]) Da Prof. Krause bestreitet, eine derartige Aeußerung getan zu haben, sehe ich mich veranlaßt, hier einen Absatz aus der letzten Arbeit von Krause und Meinicke in der Deutschen Med. Wochenschr. 1910, No. 14 anzuführen. Es heißt dort: „Mit dem Nachweis, daß die Poliomyelitis am lebenden Kranken durch Verimpfen von Blut resp. Lumbalflüssigkeit auf Kaninchen gestellt werden kann, ist die Möglichkeit gegeben, atypisch verlaufende Fälle (Encephalitis u. dgl.) der akuten epidemischen Kinderlähmung zuzugliedern. Es wird auf diesem Wege vielleicht auch möglich sein, abortiv verlaufende verdächtige Erkrankungen als Poliomyelitisinfektionen zu klären. Nicht selten haben wir die Beobachtung gemacht, daß gleichzeitig mit dem ausgeprägten Krankheitsfalle Familienangehörige des Patienten unter fieberhaften Durchfällen erkranken, die den Verdacht einer abortiven Poliomyelitis erwecken. In solchen Fällen von Gruppenerkrankungen wird es vielleicht in Zukunft gelingen, durch Verimpfen größerer Blutmengen oder Lumbalflüssigkeit zu einer exakten Diagnose zu gelangen.“

ristische perivaskuläre Infiltration fehlt, so ist das doch kein Grund, den tatsächlich vorhandenen charakteristischen Veränderungen jede Beweiskraft abzusprechen.

Wenn wir auch selbst davon überzeugt waren, aus Hagen Poliomyelitisvirus erhalten zu haben, so haben wir, um dies auch objektiv nach jeder Richtung hin zu sichern, die Herren Landsteiner und Römer um Ueberlassung einer Probe ihres Virus gebeten. Die beiden Herren haben in liebenswürdigster Weise dieser Bitte entsprochen. Mit beiden Virusarten gelang es uns nun ohne weiteres Kaninchen zu infizieren und das Virus im Kaninchen bis jetzt bis zur 3. Passage fortzuzüchten. Die von diesen Kaninchen gewonnenen Rückenmarks- und Gehirnschnitte zeigen genau dieselben Veränderungen wie die von mit Hagener Virus infizierten Tieren stammenden Schnitte.

Römer (Marburg): Zwei Bemerkungen des Herrn Meinicke muß ich richtig stellen. Ich soll gesagt haben, mit abgetötetem Virus könne man nicht gegen Poliomyelitis immunisieren. Ich habe aber gesagt: Mit abgetötetem Virus hat man bisher nicht immunisieren können. Ich glaube, das ist etwas anderes. — Sodann soll ich gesagt haben, das spezifische Antipoliomyelitisserum vernichte das Virus. Tatsächlich habe ich gesagt: Das Serum vernichtet die Infektiosität des Virus. Auch das ist etwas anderes und wichtig gerade im Hinblick auf die Versuche einer Immunisierung mit Mischungen von Serum und Virus. Denn die so erzeugte Immunität ist eine aktive.

Meine Stellung zur Kaninchenfrage will ich noch einmal dahin präzisieren, daß man zwar auf das Kaninchen als Versuchstier für die Poliomyelitis noch nicht verzichten soll, zumal sie nach den neuen Mitteilungen der Herren Krause und Meinicke mit Bezeichnung der besonders geeigneten Rassen ein neues Gesicht bekommen hat. Ich mahne nur noch einmal zu großer Skepsis in Beurteilung der Infektionserfolge bei diesem Versuchstier.

Paul Krause (Bonn) berichtigt zuerst die Bemerkung von Herrn Selter. Er habe nicht empfohlen zu klinisch diagnostischen Zwecken den Tierversuch heranzuziehen, er wisse aus vielfacher Erfahrung, daß der Tierversuch gerade in den wichtigsten Fällen ebenso wie etwa bei der Meningitis tuberculosa für klinische Zwecke zur Zeit noch ohne Belang ist. Dagegen habe er darauf hingewiesen, daß man im wissenschaftlichen Interesse in Zukunft bei Gelegenheit gerade die atypischen Formen, welche zurzeit klinisch zur Kinderlähmung gerechnet werden, wie die encephalitische, die meningitische, die ataktische, und vor allem die abortive Form durch das Tierexperiment als dazu gehörig einwandfrei beweisen möge.

Der an sich sehr interessanten Mitteilung von Herrn Neißer über das Sterben von 3 Kaninchen ohne anatomisch nachweisbaren Befund könne er ergänzend hinzufügen, daß nach einer Sammelforschung, welche an ca. 4000 Aerzte von Rheinland und Westfalen verschickt worden ist, von mehreren Seiten ein auffallendes Sterben unter den Kaninchen in Westfalen und Rheinland beobachtet worden ist. Seiner Ansicht nach ist aber die Art dieser unter Lähmungen vor sich gehenden Kaninchenkrankheit noch näher zu erforschen.

Ob ein Zusammenhang mit der menschlichen Kinderlähmung besteht, ist noch nicht erwiesen, sicher ist es aber nicht angängig, die von Herrn Neißer beobachtete Sterblichkeit von 3 Kaninchen gegen die Gültigkeit der systematisch durchgeführten Uebertragungsversuche des Poliomyelitisvirus bei Kaninchen zu verwenden.

Ueber die anatomische Veränderung bei der experimentellen Poliomyelitis der Tiere wissen wir zurzeit noch recht wenig. Erst systematische eingehende Untersuchungen werden Klarheit schaffen; in Anbetracht der in der westfälischen und anderen Epidemien beobachteten zahlreichen abortiven Fällen von Kinderlähmung, über deren anatomische Grundlage überhaupt noch nichts bekannt ist, ist es aber noch nicht berechtigt zu verlangen, daß auch bei der experimentellen Kinderlähmung stets dieselben Veränderungen vorhanden sein sollen, wie bei den an Kinderlähmung verstorbenen Leichen. Es ist a priori viel wahrscheinlicher, daß bei den verschiedenen Affenarten und bei Kaninchen, welche mit Kinderlähmungsvirus infiziert sind, die anatomischen Veränderungen einen anderen Charakter haben werden als im menschlichen Rückenmark. Eingehende histologische Untersuchungen an infizierten Affen und Kaninchen, ebenso an menschlichen Organen hätten ihn in der geäußerten Ansicht bestärkt. Eine eingehende Publikation wird nach Abschluß der Untersuchungen erfolgen.

Zum Schluß konstatiert er mit Genugtuung, daß die Uebertragungsversuche der Kinderlähmung auf das Kaninchen auch von Herrn Römer nicht mehr vollständig abgelehnt werden. Es wäre wünschenswert, daß eine Nachprüfung auf weitester Grundlage erfolge. Aus ein paar negativen Versuchen solle man aber nicht schließen, daß das Kaninchen als Impftier ungeeignet sei. Er erinnere daran, daß auch die Uebertragungsversuche der Syphilis auf das Kaninchen erst in den letzten Jahren allgemein anerkannt worden ist, trotzdem die ersten Uebertragungsversuche von Haensel mehrere Dezennien zurückliegen.

Huntemüller (Berlin) erwidert auf die Bemerkung des Herrn Römer über die Abschwächung des Poliomyelitisvirus in Glyzerin, daß gerade bei Impfung mit dem Römerschen Virus, das über 4 Wochen in 50proz. Glyzerin gelegen hatte, von vier geimpften Affen nur einer erkrankte, während Römer 95 Proz. positive Impferfolge angibt.

Herrn Neißer wird bemerkt, daß der Vortragende ja schon selbst auf Krämpfe und Lähmungserscheinungen bei sonst normalen Kaninchen hingewiesen habe, doch gäben derartige Tiere einen anderen pathologischen Rückenmarksbefund.

Meinicke (Hagen): Bei der Bewertung der Kaninchenversuche kommen außer den schon erwähnten auch noch andere Momente in Frage. In unseren positiven Passagen erkrankten jedesmal sämtliche (2 oder mehr) mit menschlichem Ausgangsmaterial geimpfte Kaninchen und erwiesen sich frei von anderweitigen Kaninchenkrankheiten. In den negativen Passagen blieben entweder alle Versuchstiere am Leben, niemals erkrankten und starben beide Ausgangstiere. Wenn eins von ihnen zugrunde ging, waren regelmäßig andere Kaninchenkrankheiten als Todesursache nachzuweisen. Ein so regelmäßiges Verhalten läßt sich ungezwungen nur damit erklären, daß eben die Impfung ausschlaggebend für Erkranken oder Nichterkranken ist. Der gelegentlich von anderer Seite erhobene Befund von Lähmungen bei ungeimpften Kaninchen ist außerordentlich selten und kann die Bewertung unserer Passagen als Uebertragungen des Poliomyelitisvirus nicht beeinträchtigen.

In der Pause demonstrieren:

IV. Tomasczewski (Berlin) syphilitisch infizierte Kaninchen mit großen Primäraffekten und subkutanen Syphilomen.

V. Lentz (Berlin) sein neues Anaerobenzüchtungsverfahren (cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. H. 10).



VI. Wechselmann (Berlin):

Chemotherapie der Syphilis.

Die neuerdings in die Therapie der Syphilis eingeführten Arzneimittel haben nicht vermocht, sich volle Anerkennung zu verschaffen. Teilweise haben sie so unangenehme Schädigungen erzeugt, daß augenblicklich ein Mißtrauen gegen Versuche mit neuen Mitteln in der Syphilistherapie herrscht. Tatsächlich besteht auch die Frage zu Recht, ob überhaupt ein derartiges Streben gerechtfertigt ist gegenüber der durch Jahrhunderte „bewährten" Quecksilber (Jod) therapie. Sicherlich läßt diese aber noch in vieler Hinsicht unbefriedigt. Es ist wohl anzunehmen, daß ein Teil, vielleicht sogar ein großer Teil der mit Syphilis Infizierten durch eine gute spezifische Therapie geheilt wird, bestimmt erweisen läßt sich dies aber nicht, da uns gegenüber einer so eminent chronisch mit durch Jahrzehnte getrennten Rezidiven verlaufenden Krankheit ein sicheres Kriterium für die wirkliche Heilung fehlt; auch die Wassermannsche Reaktion, welche ja die Lösung mancher Kernfragen der Syphilitologie gebracht oder angebahnt hat, und welche auch hier in Betracht käme, wird sich erst nach jahrzehntelanger Beobachtung hierfür sicher bewerten lassen. Fest steht jedenfalls, daß auch bei der besten spezifischen Therapie manche Fälle — und zwar weitaus mehr als man gewöhnlich annimmt, vgl. Fourniers Buch: Syphilis secondaire tardive — nach vielen Jahren noch sekundäre und tertiäre infektiöse Erscheinungen bieten, abgesehen von den sog. parasyphilitischen Erkrankungen und daß niemand, welcher einen syphilitischen Primäraffekt in Behandlung bekommt, die sichere Gewähr für den Verlauf der Krankheit übernehmen kann. Danach ist das Streben nach Verbesserung der Syphilistherapie vollauf gerechtfertigt. Die Forderungen aber, welche man an ein neues derartiges Mittel stellen muß, sind: 1. daß es zum mindesten nicht schädlichere Wirkungen als Quecksilber besitzt und 2. daß es in seiner Wirkung auf die Symptome der Syphilis dieses übertrifft. Das Ehrlichsche Dichlorhydrat-diamido-arseno-benzol Nr. 606 leistet im Tierversuch dies beides unbedingt; man kann es in dieser Hinsicht als fast atoxisch ansehen, da Affen 0,15 ccm pro kg Körpergewicht subkutan anstandslos vertragen, während die Spirochäten bei viel niedrigeren Dosen prompt vernichtet werden. Aber auch die bisher vorliegenden Erfahrungen an etwa 300 erwachsenen Menschen zeigen, daß es auch hier kaum giftig wirkt; ich selbst habe es zuerst auch an einem ganz elenden dem Tode verfallenen Säugling mit Littlescher Krankheit in Dosis von 0,03 ohne die geringste schädliche Nebenwirkung gegeben. Danach kann man wohl das naturgemäß jedem neuen Mittel anhaftende Risiko übernehmen, da die wirksame Quecksilbertherapie, besonders die mit unlöslichen Salzen Salizyl, Kalomel und vor allem grauem Oel keineswegs unbedenklich ist und die Literatur eine große Zahl von schweren, auch tödlichen Intoxikationen — die sich vorher gar nicht



berechnen lassen — bei völlig korrekter Anwendung aufweist. Bei der Prüfung ging ich daher von dem Gedanken aus, ob 606 solche Fälle, die der bisherigen Therapie absolut nicht weichen, günstig beeinflußt. Der Erfolg war frappant. Dieser 25jährige Mann steht seit 1906 wegen einer schweren, von Anfang an malignen Syphilis in fast ununterbrochener Krankenhausbehandlung. Er kam jetzt auf unsere Abteilung mit tiefen Ulzerationen am Schädel und einem Geschwür, welches die Haut der Glans und des Schaftes des Penis fast vollständig zerstört hatte; eine einzige Injektion von 0,3 brachte alles unmittelbar zur Reinigung und innerhalb $3^1/_2$ Wochen zu voller Ueberhäutung, so daß Patient nicht mehr im Krankenhaus bleiben wollte. Heute sieht man dies im Gegensatz zu der Moulage, die die Zerstörungen bei beginnender Heilung zeigt, deutlich, wenn auch eine sehr geringe Epithelerosion, die aber nicht spezifisch aussieht, an der Narbe kenntlich ist; der Patient lebt in den dürftigsten Verhältnissen und hat die Narbe sehr vernachlässigt. Noch eklatanter ist die Heilung bei diesem jungen Mädchen, welches seit April 1909 ununterbrochen auf meiner Abteilung in Behandlung steht wegen ulzeröser Mastdarmstrikturen und großer serpiginöser tiefer gummöser Hautgeschwüre der Nates, die der Behandlung absolut trotzten. Nach einer Injektion trat sofortige Ueberhäutung ein, wie dies die Moulagen zeigen. Ebenso frappierend ist die Heilwirkung bei malignen Formen der Lues. Dieses junge Mädchen, welches anfangs dieses Jahres wegen frischer Lues bei uns mit einer Inunktionskur behandelt ist, kam jetzt mit einem ulzerokrustösen Syphilid des Gesichts und einer ausgedehnten Ulzeration der gesamten Rachenorgane zur Aufnahme; speziell das Zäpfchen war an beiden Seiten seiner Basis tief ulzeriert, so daß es nur noch an einem Stil hing und gänzlicher Verlust unmittelbar bevorstand. Die Patientin konnte seit Tagen gar nicht mehr schlucken und auch die Atmung war behindert. Auf eine Injektion von 0,3 trat in wenigen Tagen Heilung ein. Ebenso heilte diese ausgedehnte über den ganzen Körper verbreitete ulzeröskrustöse Syphilis (Moulage) ganz prompt bis auf die leichten Pigmentierungen. Sehr beachtenswert ist nun, daß diese Patientin, welche schon vor einigen Monaten bei uns in Behandlung stand, damals eine Neuritis optica hatte. Obgleich nun nach dem Tierversuch das neue Mittel nicht auf den Sehnerven wirkt, hätten wir Abstand genommen, das Mittel hier anzuwenden; zufällig konnten wir die alte Krankengeschichte erst nach der Injektion wieder erlangen und es war auch — was sonst immer geschieht — der Augenhintergrund nicht nochmals untersucht. Nach der Mitteilung des Oberarztes Dr. Fehs ist jetzt aber die Neuritis optica vollkommen geheilt. Eine ganze Reihe von Fällen zeigt die Wirksamkeit bei Primäraffekten, Roseola, papulösen Syphiliden, Genitalpapeln, Plaques der Mundhöhle, besonders aber auch in einem Falle von universellem lichenoiden Exanthem, das erfahrungsgemäß nur schwer heilt; die Heilung trat fast immer rapid, in einzelnen Fällen aber erst nach 2—4 Wochen ein. Die Spirochäten schwanden in den untersuchten Fällen manchmal nach 1—2 Tagen, manchmal aber erst nach etwas längerer Frist.

Es wurden dann noch einige Säuglinge mit Lues congenita behandelt und zwar wählte ich nur schwere Fälle mit Pemphigus syphiliticus oder mit ausgedehnten papulösen und pemphigoiden Formen des Syphilis



aus. Solche Kinder sind so gut wie ausnahmslos verloren, wie ja überhaupt das Leben syphilitischer Säuglinge, zumal wenn man ihnen nicht die Mutterbrust geben kann, ein höchst gefährdetes ist. Speziell die Pemphiguskinder sind meist so von Spirochäten durchwuchert, daß ihre Lebensaussichten ganz geringe sind. So habe ich z. B. in diesen letzten Wochen einen derartigen Säugling gar nicht behandelt, er starb innerhalb weniger Tage, ebenso zwei mit Quecksilber behandelte. So ist es auch nicht verwunderlich, daß von vier mit dem neuen Präparat behandelten zwei starben, nachdem die Erscheinungen rapid zurückgegangen waren; bei der Sektion zeigte das eine eine kolossale miliare Gummabildung der Leber, das andere des Herzens, aber keine Zeichen einer Intoxikation. Zwei andere sehen Sie hier in der eklatantesten Weise abgeheilt, wie die Moulagen beweisen. Ueber das Verhalten der Wassermannschen Reaktion, welche zum Teil noch besteht, zum Teil geschwunden ist, kann erst später berichtet werden.

Danach kann man schon heute sagen, daß das neue Mittel einen höchst bedeutsamen Fortschritt in der Syphilistherapie bedeutet und daß man verpflichtet ist, seine Wirkungen weiter zu erforschen, um seine Indikationen und Kontraindikationen genau festzustellen. Nach den Tierversuchen und nach bisherigen Erfahrungen an Menschen besteht die Hoffnung, daß es gelingen wird, durch die Sterilisatio magna im Sinne Ehrlichs eine wirkliche Heilung der Syphilis herbeizuführen.

Diskussion:

Uhlenhuth (Gr.-Lichterfelde): Die Krankenvorstellung des Herrn Wechselmann hat mich lebhaft interessiert, zumal da ich zu der Arsentherapie der Syphilis die experimentelle Grundlage gelegt habe. Das neue Ehrlichsche Präparat 606 ist aus dem Atoxyl hervorgegangen. Atoxyl hat auch beim Menschen überraschende Ergebnisse gehabt. Wenn man es in der letzten Zeit weniger angewandt hat, so liegt das in erster Linie an den Nebenwirkungen, die es wie alle Arsenpräparate auf das Auge ausübt. Wenn von Buschke behauptet wird, das Atoxyl habe vollkommen Fiasko gemacht, so ist das nicht den Tatsachen entsprechend und wenn gar behauptet wird, man habe in Analogie zu der Wirkung auf Trypanosomenkrankheiten ohne weiteres die Atoxyltherapie auf die Syphilis übertragen, so beruht solche Behauptung auf Unkenntnis der Literatur und der experimentellen Tatsachen.

Die Atoxyltherapie der Syphilis beruht auf so absolut sicherer wissenschaftlich experimenteller Grundlage wie die Behandlung keiner anderen Krankheit. Die ersten diesbezüglichen Versuche sind von mir und meinen Mitarbeitern Groß und Bickel bereits 1906/1907 im Kaiserl. Gesundheitsamt mit der Hühnerspirillose angestellt. Das ist bekanntlich eine Krankheit, deren Erreger mit der *Spirochaete pallida* die größte Aehnlichkeit hat. Wir konnten bei Tieren, deren Blut mit Spirochäten überschwemmt war, durch wenige, oft schon durch eine einzige Einspritzung von Atoxyl die Parasiten zum Verschwinden bringen. Ja selbst auch präventiv wirkt dieses Mittel in hervorragender Weise. Das waren überraschende Ergebnisse, die durch Levaditi und andere Forscher bestätigt wurden und die in diesem Zusammenhang erwähnt werden müssen. Auch Ehrlich hat mit seinen neueren Arsenpräparaten kürzlich ähnliche Erfolge bei der Hühnerspirillose erzielt.

Auch bei Rekurrens sind auf meine Veranlassung von Glaubermann in Rußland Versuche mit günstigem Erfolge ausgeführt. Erst diese Beobachtungen der spezifischen Wirkung des Atoxyls auf die Spirochäten der Hühner haben mich veranlaßt, das Atoxyl bei der Spirochätenkrankheit des Menschen — der Syphilis in Anwendung zu ziehen. Aber auch hier wurden die Versuche erst am Tier gemacht (Uhlenhuth, Hoffmann, Roscher, Weidanz).

Bei der Affen- und Kaninchensyphilis konnten sehr günstige Resultate erzielt und vollständige Ausheilung der Syphilis beobachtet werden. Besonders eklatant war auch



die präventive Wirkung des Atoxyls, die ja ganz besonders für die spezifische Bedeutung des Mittels sprechen dürfte. Wie unsere (Uhlenhuth und Weidanz) vergleichenden Untersuchungen ergeben haben, ist das Atoxyl der Syphilis der Tiere gegenüber viel wirksamer als das Quecksilber. Hg wirkt ja auch präventiv nicht. Wenn man die Verhältnisse ohne weiteres auf den Menschen übertragen könnte, so hätte man in dem Atoxyl geradezu ein ideales Mittel für die Syphilisbehandlung.

Aus diesen Mitteilungen geht hervor, daß meine Untersuchungen die sichere experimentelle Basis für die Chemotherapie der Spirillosen und insonderheit für die Arsenbehandlung der Syphilis gelegt haben und daß es keine vage Empirie ist, auf Grund deren wir das Atoxyl empfohlen haben. Die Atoxylarsentherapie ist eine durchaus rationelle Therapie. Das beweisen auch die hier gezeigten Resultate mit dem neuen Ehrlichschen Präparat, die das bestätigen, was wir z. T. in ähnlicher Weise bereits beim Atoxyl gesehen haben. Ich möchte hoffen, daß es nur die Vorteile, nicht aber die Nachteile des Atoxyls hat. Allerdings halte ich es auch jetzt schon für wenig wahrscheinlich, daß man mit einer Injektion bei einer so chronischen Krankheit auskommen wird. Genau wie bei der chronisch verlaufenden Dourine ist meiner Ansicht nach auch bei der Syphilis eine Etappenbehandlung notwendig. Dann wächst aber wieder die Giftwirkung des Mittels. Das Atoxyl wird auch heute noch angewandt in Fällen, wo Hg versagt. Es sind auch mit Atoxyl ganz verlorene Fälle (Syphilis maligna) geheilt worden. — Ich habe mich nun, überzeugt von der Ueberlegenheit des Atoxyls dem Hg gegenüber, dauernd bemüht, das Atoxyl zu verbessern und habe ein Präparat konstruiert, welches die beiden Heilfaktoren gegen die Syphilis enthält, Hg und Atoxyl. Es ist das atoxylsaure Quecksilber. — Dieses Präparat hat sich im Tierversuch gut bewährt, mit einer oder einigen Einspritzungen gehen die syphilitischen Erscheinungen — Schanker, Hornhaut- und Hodensyphilis bei Kaninchen vollständig zurück (Uhlenhuth, Manteufel, Mulzer). Auch beim Menschen lauten die Erfahrungen von Lesser, Fabry, Mickley und Lambkin günstig. Ich glaube, daß die Kombination von Arsen und Hg für die menschliche Therapie das richtige treffen wird.

Hoffen wir, daß wir mit diesem Präparat und dem neuen Ehrlichschen Präparat weiter kommen, und daß wir auch in Zukunft den Beweis erbringen, daß wir in den Arsenpräparaten wichtige Mittel zur Syphilisbekämpfung besitzen.

Hoffmann (Bonn): Auch ich bin überrascht von den ausgezeichneten Erfolgen, die Herr Wechselmann uns hier demonstriert; das Verblüffendste ist, daß diese Erfolge durch eine einzige Injektion erreicht worden sind. Allerdings kann man wohl von keinem der Fälle schon jetzt mit Sicherheit behaupten, daß Heilung eingetreten ist, wie Herr W. ja für die meisten auch selbst zugibt.

Im allgemeinen können wir bei richtiger Anwendung auch mit Quecksilber und Jod (geeignetes Präparat und Menge) die meisten der hier demonstrierten Erscheinungen im klinischen Sinne heilen [1]), und die Gefahren des Quecksilbers hat Herr W. meiner Meinung nach doch zu sehr betont. Auch das Atoxyl zeigte anfangs einige erstaunliche Erfolge; was Uhlenhuth, Roscher und ich in unserer ersten Arbeit darüber gesagt haben, besteht noch jetzt zu Recht. Eine Wirkung auf die Lues ist nicht zu bestreiten.

Auf eins möchte ich hinweisen: Es ist durchaus notwendig, daß alle Schädigungen des neuen Mittels sogleich publiziert werden. Bei den Ehrlichschen Präparaten ist das leider nicht immer sofort geschehen; es ist da ein Todesfall erst verspätet und auf Umwegen veröffentlicht worden. Das sollte bei einem Mittel, das bei einer so häufigen Krankheit wie der Syphilis empfohlen wird, nicht unterlassen werden.

Auch ich aber hoffe von dem neuen Mittel 606, daß es uns Gutes leisten wird; aber der Schlußsatz des Herrn W., daß es dem Hg schon jetzt als überlegen bei der Therapie der menschlichen Syphilis anzusehen sei, ist doch erst noch zu beweisen.

Tomasczewski (Berlin): Ich will auf den Wert des neuen Hatapräparates nicht vom praktisch-klinischen, sondern vom experimentellen Standpunkt eingehen. Bei

---

[1]) Der erste demonstrierte Fall hat sich in der Lesserschen Klinik auch mit Calomel sehr gebessert.



Kaninchensklerosen verschwanden die Spirochäten nach 15 mg der Substanz intravenös nach 16—30 Stunden, blieben verschwunden und die klinischen Erscheinungen bildeten sich zurück. Diese Untersuchungen sind an zahlreichen Tieren und unter Verwendung genügend zahlreicher Kontrollen vorgenommen und haben jedenfalls das eine mit Sicherheit ergeben, daß das neue Hatapräparat eine spezifische antisyphilitische Wirkung besitzt.

Ehrlich (Frankfurt a. M.) s. Anhang a. S. 223.

Wechselmann (Berlin): Herr Hoffmann hat es so dargestellt, wie wenn ich die Gefahren des Quecksilbers zu sehr hervorgehoben hätte. Tatsächlich habe ich auf diese nur scharf hingewiesen, um damit das dem neuen Mittel etwa anhaftende Risiko mit dem Risiko des Quecksilbers in Parallele zu setzen. Daß aber das letztere durchaus auch bei korrekter Anwendung die schwersten Folgen haben kann, beweist eine Zusammenstellung über das Debet der Behandlung mit unlöslichen Salzen in den Annales de dermatologie, wo man die besten Namen findet. Und auch aus der Lesserschen Klinik ist wohl Herrn Hoffmann ein Fall bekannt, wo eine Frau vom Arzte, wie Herr Geh. Rat Lesser ausdrücklich betonte, in völlig korrekter Weise 2 × ½ Spritze Hydrarg. salicyl. bekommen hatte, nach kurzer Krankheit an Hg-Vergiftung starb. Ebenso ist in der Literatur ein Fall von einem kräftigen jungen Mädchen bekannt, welches nach Einreibung einer bohnengroßen Menge von Ungt. ciner. gegen Pediculi pubis an Quecksilberintoxikation starb. Es kommt eben nicht auf die korrekte Anwendung an, sondern es handelt sich in ganz klarer Weise um unberechenbare Überempfindlichkeitserscheinungen.

A. v. Wassermann (Berlin) weist darauf hin, daß die Serodiagnostik der Syphilis ergeben habe, daß in einer früher nie geahnten Anzahl von Fällen die Reaktion trotz intensivster Kur noch positiv bleibt. Da man zweifellos heute sagen kann, daß derjenige Luetiker, welcher positiv reagiert, noch unter dem Einflusse seiner luetischen Infektion stehe, so müßte man die endgültige Heilwirkung des Quecksilbers als experimenteller Therapeut doch bedeutend geringer einschätzen, als dies in der Praxis bisher vielfach geschah. Es müsse daher ein neues im Sinne Ehrlichs sterilisierendes, spirozides Heilmittel als ungeheuer wünschenswert und nötig bezeichnet werden.

Hoffmann (Bonn): Ich glaube doch zum Teil mißverstanden worden zu sein. Die Gefahren des Quecksilbers leugne ich nicht; nur hat Herr Wechselmann sie zu stark betont. Bezüglich der Notwendigkeit der sofortigen Mitteilung der gefährlichen Nebenwirkungen bin ich ja mit Herrn Ehrlich derselben Meinung. Die hervorragenden und erstaunlichen Erfolge der nur einmaligen Injektion habe ich ja ohne weiteres zugegeben und begrüße sie mit großer Freude als wesentlichen und ungemein wichtigen Fortschritt.

Wenn ich von Heilung der Syphilis durch Hg und Jod gesprochen habe, so geschah das im üblichen klinischen Sinne; daß eine völlige wirkliche Heilung durch diese Mittel oft nicht erreicht wird, wissen wir ja alle. Aber in dem Sinne konnte jetzt nach Herrn W.s Demonstration eine Parallele nicht gezogen werden, da für das Präparat 606 die Dauerwirkung noch zu erweisen ist.

Auch ich beglückwünsche Herrn Ehrlich zu seinem so verblüffend wirksamen Präparat, das hoffentlich in jeder Hinsicht hält, was ihm nachgerühmt wird.[1])

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Ich möchte noch bemerken, daß ich auch bereits 2 Präparate mit Einführung einer Jodgruppe geprüft und mit Manteufel (Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. I. 1. 1908) beschrieben habe.

[1]) Dem Atoxyl ist es darin ja sicher überlegen, daß die *Spir. pall.* so schnell nach einer Injektion verschwindet. Wichtig wäre es die von uns schon beim Atoxyl beobachtete „lokale" Wirkung auf syphilitische Effloreszenzen zu untersuchen.



Es handelt sich um

1. J / (Benzolring) / $As=O$ / ONa ONa

2. NH_2 / J / (Benzolring) / $As=O$ / ONa ONa

Das erste ist von Blumenthal und Herschmann, das zweite von den Vereinigten Chemischen Werken auf meine Veranlassung dargestellt worden.

Beide Präparate sind durch die Jodierung erheblich giftiger geworden als das Atoxyl und zeigten sich den Spirochäten der Hühner gegenüber als weniger wirksam.

Ferner haben wir auch das Hg-Salz der p-Jodphenylarsinsäure (Blumenthal) geprüft, aber keinen erheblichen Vorteil vom Präparat gesehen, wenn es auch deutlich spirochätenabtötend wirkte.

Das „Asurol" (A. Neißer), das ich mit Haendel zusammen prüfte, vermochte erst in hohen Dosen Hühnerspirillose zu heilen, Hühner vertragen es gut, Ratten sehr schlecht, daher hatten wir bei Rekurrens keine Erfolge.

Der Hauptvorteil meines atoxylsauren Hg scheint mir darin zu liegen, daß man mit kleinen Dosen auskommt. Es ist ja geradezu erstaunlich, daß solche kleine Mengen — 0,5 g für die ganze Kur — eines unlöslichen Präparats überhaupt eine Wirkung ausüben. Die Kombinationswirkung zweier Arzneimittel scheint mir hier in interessanter Weise in die Erscheinung zu treten, ähnlich wie die Kombination zweier Desinfektionsmittel in Dosen wirkt, in denen die einzelnen Komponenten unwirksam sind. Bei der chronischen Syphilis ist aber auch chronische Behandlung erforderlich; anders bei Rekurrens und Hühnerspirillose, da reagiert der Körper auch gleichzeitig mit Antikörpern, die der Therapie zugute kommen. Das ist bei der Syphilis nicht der Fall; da es keine Immunität bei dieser Krankheit gibt.

Schereschewsky (Göttingen): Die scheinbare Divergenz zwischen Ausheilen der luetischen Erscheinungen und dem Spirochätenbefund unter dem Einfluß des Ehrlichschen Präparates 606 habe ich seinerzeit auch bei Kalomelbehandlung beobachtet. Ein breites Kondylom auf dem Rücken wurde mit Kalomel bestreut und täglich auf Spirochäten untersucht.

Bis zum sichtlichen Ausheilen ließen sich Spirochäten vom Pallidatypus finden.

Tomasczewskys Behauptung, er „habe eine Methode gefunden", um konstant auf subkutanem Wege Kaninchenlues zu erzeugen, ist insofern zu korrigieren, als die demonstrierte Methode keine subkutane Impfung, sondern ein Implantieren von Stückchen unter die Skrotalhaut darstellt, welche Methode von mir vor 4 Jahren mit positivem Erfolg geübt und 1908 publiziert wurde.

VII. Jos. Koch (Berlin):

Studien zur Aetiologie der Tollwut.

Der Vortragende demonstriert Schnitte, Zeichnungen und Diapositive der kokkenartigen Gebilden, die sowohl extrazellulär in der grauen Substanz des Ammonshorns, in der Großhirnrinde, als auch intrazellulär in den Ganglienzellen des Gehirns und Rückenmarkes lyssakranker Tiere vorkommen (s. auch J. Koch und P. Rissling, Studien zur Aetiologie der Tollwut. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 65). In betreff der im Ammonshorne vorkommenden Formen hatten J. Koch und Rissling die Vermutung ausgesprochen, daß es sich hier um parasitäre Gebilde handeln dürfte. Die Gründe, die dafür sprachen, waren:

1. das morphologische Verhalten, die runde, kokkenförmige Gestalt,
2. gewisse Einzelheiten, wie Teilungslinien, die man an den größten der kokkenartigen Gebilde wahrnehmen kann,
3. das Eindringen derselben in die Ganglienzellen,
4. das Fehlen im normalen Hirngewebe.

Die bereits im 65. Bd. der Zeitschr. f. Hyg. mitgeteilten Befunde waren mit der Färbung nach Heidenhain erhoben worden; da diese Färbung wegen der in gleicher Weise sich schwarz färbenden Gewebsteile und Zerfallsprodukte leicht zu Verwechslungen Anlaß gibt, haben J. Koch und sein Mitarbeiter v. Krogh versucht, die kokkenartigen Gebilde auch mit einer der gewöhnlichen Bakterienfarben darzustellen. Nach verschiedenen Versuchen ist es v. Krogh gelungen, eine neue Färbung zu finden, die zum Teil befriedigende Resultate gibt. Die Schnitte werden 5 Minuten mit polychromem Methylenblau gefärbt, darauf mit 2proz. Chromsäure einige Minuten gebeizt und in 5proz. Gerbsäure differenziert. Das Gewebe erscheint blaugrün, die kokkenartigen Gebilde, die bei Heidenhain schwarz aussehen, blau bis rötlich violett (Negrische Körperchen ebenso), sie färben sich also metachromatisch; vom tiefen Blau bis zum rötlichen Violett kommen alle Uebergänge vor. In den Ganglienzellen erscheinen sie meist violettrot im hellen Blau des Protoplasmas. Hinsichtlich der Metachromatie herrscht also vollkommene Uebereinstimmung mit den Resultaten, die Negri bei der Differenzierung der Innenkörperchen seiner Gebilde erzielt hat.

Die Gebilde wurden gefunden:

1. bei natürlicher Wut des Menschen und verschiedener Tiere (2 Knaben, 11 Rinder, 1 Pferd),
2. bei experimenteller Straßenwut, bei Hunden, die intramuskulär infiziert worden waren,
3. bei natürlicher Straßenwut, der Hunde; hier vielfach auch intrazellulär mit Negrischen Körperchen, mit allen Uebergängen von den kleinsten bis zu den größten Formen.



Bei experimenteller Straßenwut — die Hunde gingen fast ausnahmslos unter dem Bilde der stillen Wut zugrunde — fehlten die Negrischen Körperchen in $^2/_3$ der Fälle entweder ganz oder sie kamen sehr spärlich vor, dagegen waren die kokkenartigen Formen bis auf einige Ausnahmen immer vorhanden.

Der Nachweis, ob die kokkenartigen Gebilde nur bei der Tollwut vorkommen, ist aus Mangel einer absolut zuverlässigen Färbemethode, welche die oft sehr kleinen Formen in den verschiedenen Bezirken des Gehirns in jedem Fall deutlich gegenüber dem übrigen Gewebe zur Darstellung bringt, nicht leicht zu führen. Bisher wurden sie jedoch in keinem Falle gefunden, bei dem Tollwut mit Sicherheit auszuschließen war.

Was die Beziehungen der Gebilde zu den Negrischen Körperchen angeht, so hält J. Koch die extrazellulären in der grauen Substanz und in den Ganglienzellen vorkommenden kokkenähnlichen Formen mit den Innenformationen des Negrischen Körperchens, die Negri als Sporen deutet, für identisch. Das Negrische Körperchen kann daher weder als ein spezifisches Produkt einer Zellentartung gedeutet, noch für ein Protozoon, dem Calkins den Namen Neuroryctes hydrophobiae gab, gehalten werden. Die Befunde, die Negri in seiner letzten Arbeit über die feinere Struktur mitgeteilt und durch eine große Anzahl instruktiver Abbildungen erläutert hat, decken sich mit den Untersuchungen von J. Koch und v. Krogh, die bei langer fortgesetzter Differenzierung der Körperchen den Nachweis führen konnten, daß es in den meisten Fällen aus feinsten kokkenartigen Gebilden zusammengesetzt ist, die dann untereinander verklumpen, bei der Heidenhainmethode gleichmäßig schwarz und bei der Färbung nach v. Krogh blau bis rotviolett erscheinen. Durch eine hyaline Entartung des umgebenden Zellprotoplasmas wird dann das Körperchen gewissermaßen eingekapselt und sequestriert.

Vor der Gefahr der Verwechslung mit Degenerationsprodukten oder anderen Gewebsbestandteilen des Gehirns kann man sich schützen, wenn man die kokkenähnlichen Gebilde nur dort diagnostiziert, wo sie sehr zahlreich vorhanden, wo intra- und extrazelluläre Formen vorkommen, wo Teilungslinien an den größten Formen sichtbar und wenn gelungene Färbungen nach v. Krogh und Heidenhain sich deckende Befunde ergeben.

(Ausführliche Publikation erfolgt im LXVIII. Bd. der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten.)



VIII. Trautmann und Dale (Hamburg):

Beitrag zum Formenkreis des Diphtheriebazillus (Autoreferat).

Aus den Jahren eifrigerer Beschäftigung mit dem Diphtheriebazillus sind einige Fragen aus dem Gebiete seiner Morphologie unabgeschlossen zurückgeblieben. Eine solche Frage ist die nach der Möglichkeit einer Luftmycelbildung, die Spirig zuerst aufwarf, und, wie ich glaube mit Recht, ohne daß ihr scheinbar öffentlich Rücksicht geschenkt wurde. Mit einer andern: einer ganz ungewöhnlich starken Ausprägung metachromatischer Körperchen bei echten Löfflerschen Bazillen, machten uns letzten Winter in Hamburg unsere laufenden

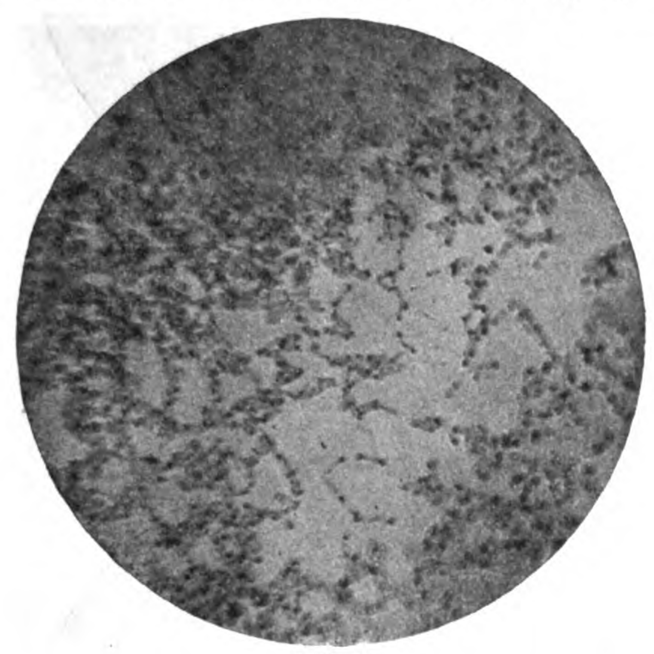


Abb. I.

Diphthorieabstrichuntersuchungen bekannt. Die hierdurch veranlaßten bizarren Formen sind uns bis dahin unbekannt gewesen. Fachleute brachten den auch ihnen neuen Präparaten ein lebhaftes Interesse entgegen und die geläufigen Handbücher oder Monographien enthalten nichts Sicheres über diese Erscheinungsformen. So sei in Gegenwart so vieler Praktiker eine kurze Vorführung von Lichtbildern mit den wichtigsten Zusatzbememerkungen gestattet. Leider ist Herr Dale, den ich seinerzeit um Isolierung und Bearbeitung der in Rede stehenden Keime gebeten hatte, und der das Material ausführlich veröffentlichen wird, wegen nicht genügender Beherrschung der deutschen Sprache verhindert, selbst die Ergebnisse vorzutragen.

Abb. I: Diphtheriebazillen typischer Form mit mittelstarker Körnchenbiidung (Originalausstrich (neue Neißerfärbung) nach 20stündigem Wachstum auf Löfflerserum bei 35—36 ° C).

Abb. II: Diphtheriebazillen typischer Form mit sehr ausgeprägter Körnchenbildung (Originalausstrich usw. wie Abb. I).

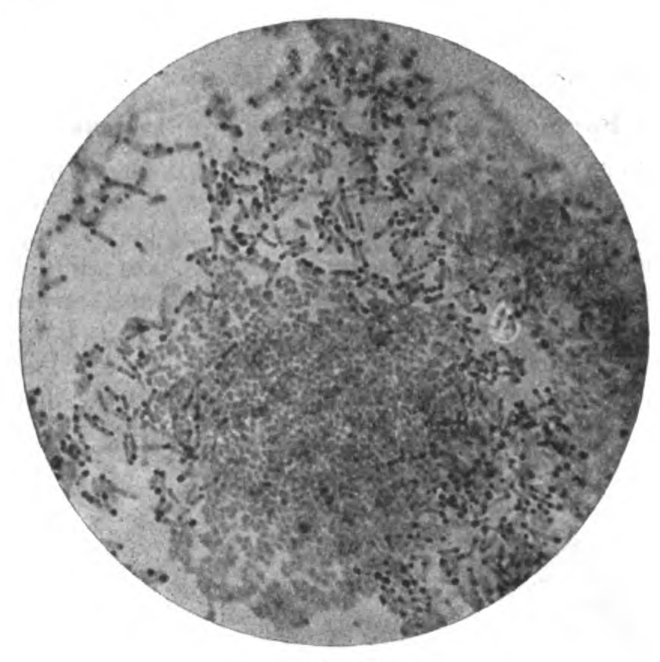


Abb. II.

Abb. III: Die isolierten atypischen Keime mit ungewöhnlich starker Körnchenbildung (Originalausstrich usw. wie Abb. I).

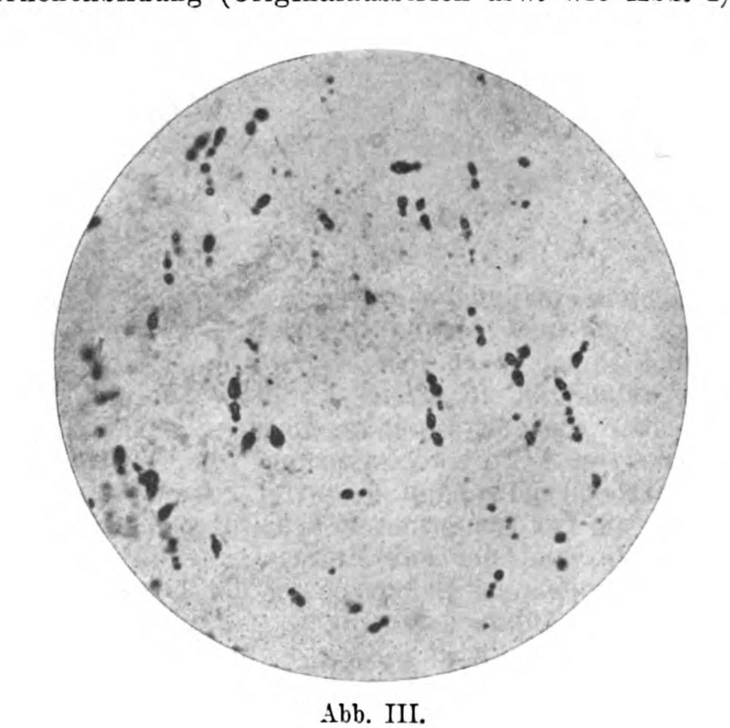


Abb. III.

Abb. 1: Die atypische Diphtheriebazillenform nach 12 Stunden (Löfflers Methylenblaufärbung); Form und Färbbarkeit beginnen unregelmäßig zu werden.

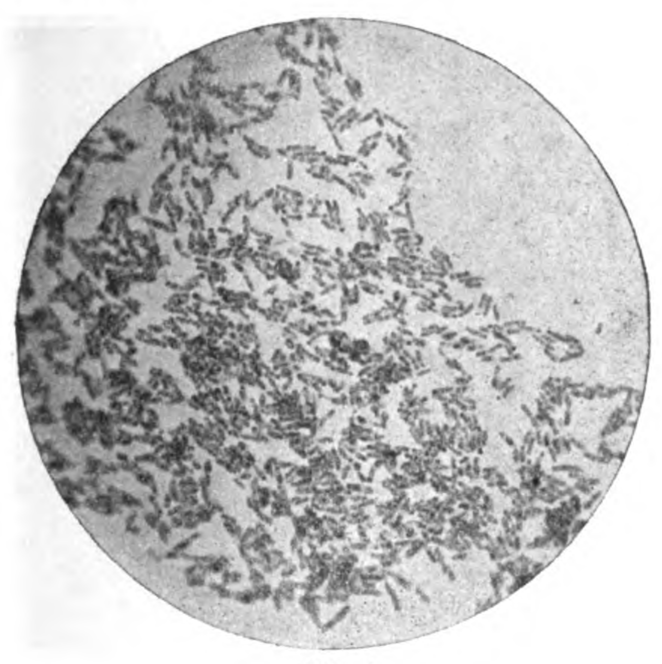


Abb. 1.

Abb. 2: Typische Diphtheriebazillenform gleichen Wachstums und gleicher Färbung zum Vergleich.

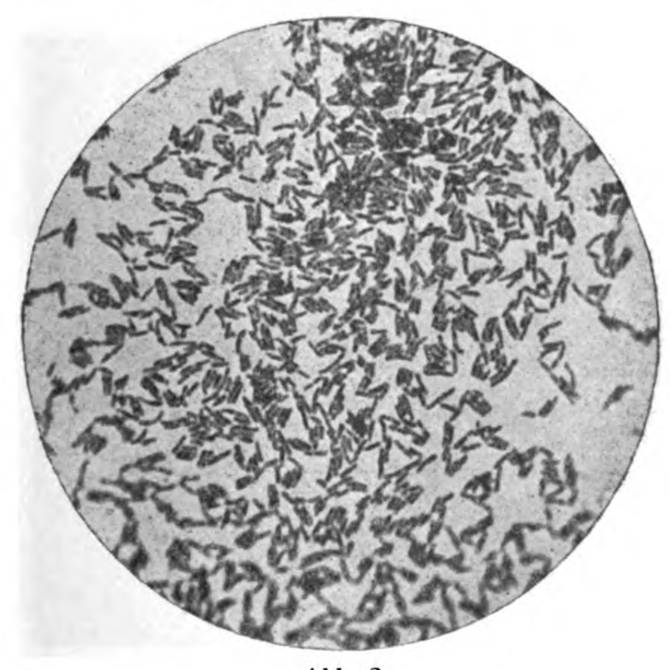


Abb. 2.

Abb. 3: Die atypische Diphtheriebazillenform nach 24 Stunden (neue Neißerfärbung); die Körnchen sind von ungewöhnlicher Größe und Form, die Leiber fast völlig unsichtbar.

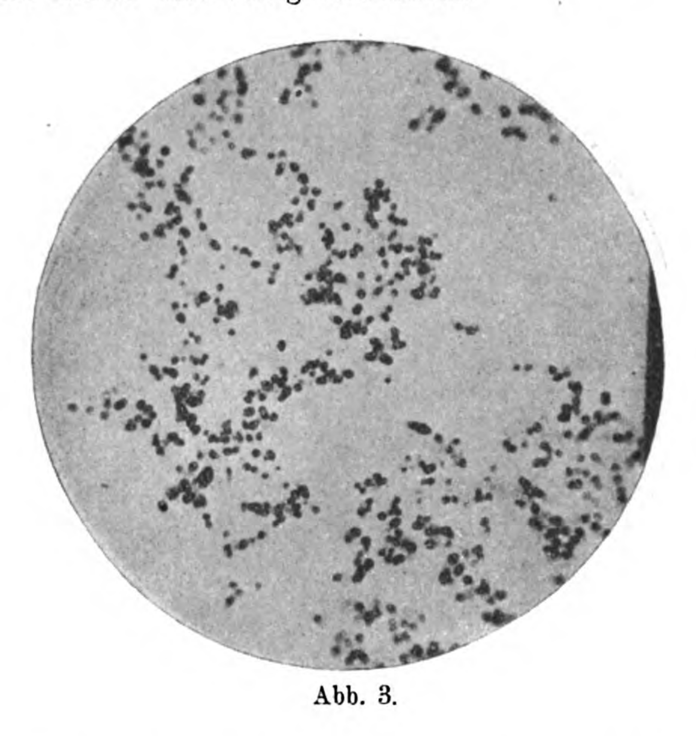


Abb. 3.

Abb. 4: Typische Diphtheriebazillenformen gleichen Wachstums und gleicher Färbung zum Vergleich.

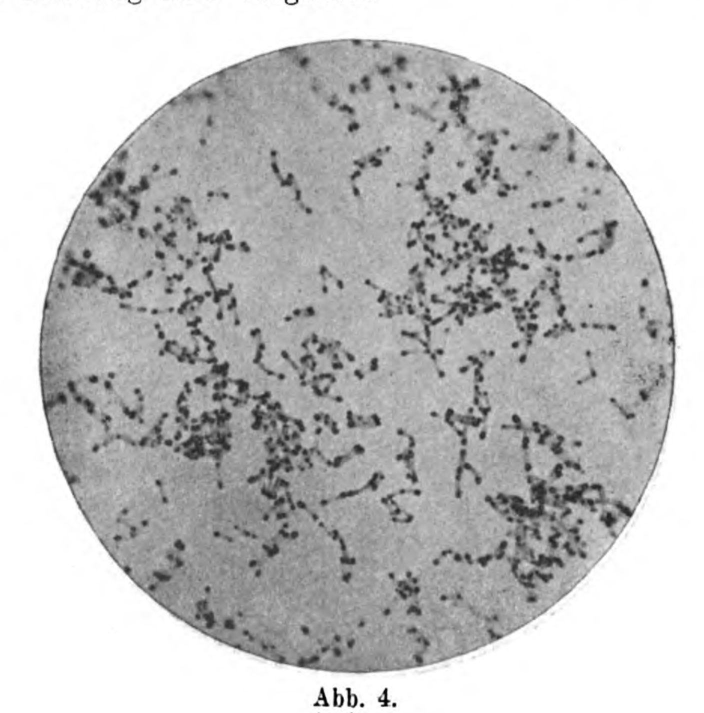


Abb. 4.



Abb. 5: Die atypische Diphtheriebazillenform nach 48 Stunden (neue Neißerfärbung); die Formen der Körnchen sind bizarr und völlig ungewöhnlich.

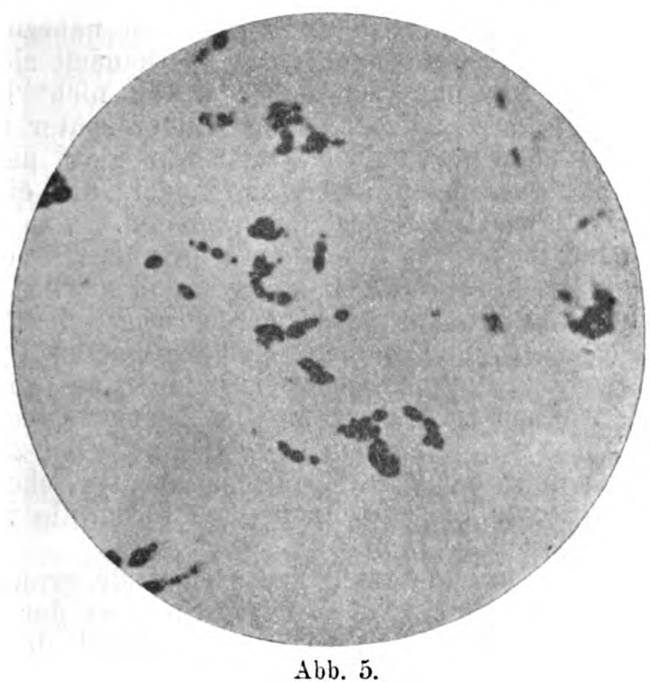


Abb. 5.

Abb. 6: Typische Diphtheriebazillenformen gleichen Wachstums und gleicher Färbung zum Vergleich.

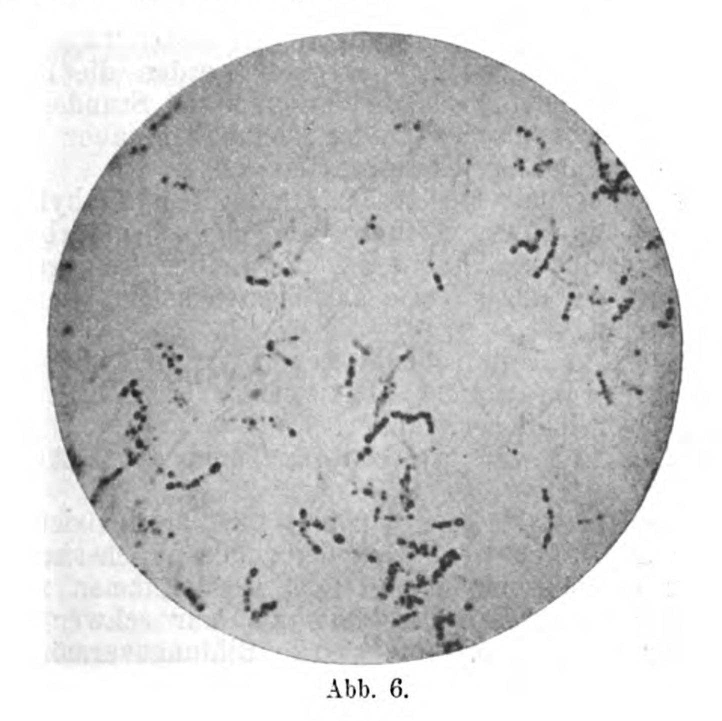


Abb. 6.

Unter 21 einschlägigen, im Dezember und Januar verflossenen Winters gehäuft zur Beobachtung gekommenen Diphtheriefällen sind 5 Stämme isoliert, 16 nur mikroskopisch diagnostiziert worden. Die 5 isolierten Stämme, sowie 11 weitere Fälle stammten aus einem kleineren hamburgischen Ort, und zwar betrafen nahezu alle: Kinder einer Warteschule oder deren Angehörige. Es handelt sich um Kranke und Gesunde. Die Erkrankungen selber waren nicht besonders bösartig, wenn auch 5 der ziemlich elenden Kinder später noch zugrunde gingen; der Abfall nach Serumeinspritzung war glatt und typisch gewesen. 8 Erkrankungen fielen auf Wartekinder, die einem feuchten, unsauberen einstöckigen Häuserblock entstammten.

Die 5 isolierten atypischen Stämme waren anfangs von sehr ausgesprochener Eigenart: sehr empfindlich, langsam und spärlich wachsend, mit einem ganz ungewöhnlichen Vermögen, metachromatische Riesenkörnchen zu bilden. Mit der Zeit, und namentlich bei schneller Umimpfung auf Löfflerserum, war ein allmähliches Umschlagen des ganzen Stammes zum typischen Wachstum zu bemerken. Bei Zimmertemperatur bildeten ausgebrütete Kulturen nach längerem Verweilen zwischen zarten Kolonien stets „Sekundärkolonien“ mit allen Eigenschaften „typischer“ Diphtheriestämme. Aus ihnen war die zarte atypische Form nie wieder zurückzuzüchten.

Auf Löfflerserum bildeten die Kulturen runde, grau-durchsichtige, zarte, festhaftende Kolonien. Auf Deckgläschen ist der Rasen schwer verreibbar. Die Bakterien beginnen (mikroskopisch!) durchweg bereits nach etwa 12 Stunden die kurze Form und regelmäßige Färbung und Anordnung der Corynebakterien zu verlieren; zeigen nach 24 Stunden neben spärlichen typischen Formen fast nur metachromatische Körner verschiedener Größe, Form und Anordnung (vgl. Bilder) bei kaum sichtbaren Leibern. Nach 48 Stunden: Körnerbildung von grotesker Größe und Form (Birnen-Kürbisformen bis zu nahezu Blutkörperchengröße!).

Auf Agar zeigt der Koloniebau in den ersten Tagen keine durchschlagenden Unterschiede vom Typ; später werden die Kolonien etwas körniger. Die Einzelbazillen sind hier nach 24 Stunden, kurz, etwas kokkenartig, ähnlich typischen Diphtheriebazillen, aber mit einer viel kräftigeren Ausprägung des Körnchencharakters.

Bei der Färbung mit Löfflers alkalischem Methylenblau färben sich die Körnchen durchweg rötlich; nach Gram gefärbt, nehmen die Körnchen die blauschwarze Farbe an, die Leiber hingegen die Gegenfarbe, so daß man auf diese Weise am ehesten sehen kann, daß man es mit Stäbchen zu tun hat.

Kulturell sind Unterschiede gegen typische Diphtheriestämme nicht aufgefallen; ein Stamm aber wuchs in Bouillon gleichmäßig trübend, auf Agar reichlicher, runder.

Der Tierbefund war typisch, das Toxin durch Antitoxin leicht abzubinden.

Die Einzellkultur nach Burri (Gelat. 22°) erwies sich bei der Zartheit der Keime unmöglich wegen ausbleibenden Wachstums.

Wir haben es also mit echten Diphtheriestämmen zu tun gehabt, die sich von der menschlichen Schleimhaut nur schwer an Löfflerserum oder Agar gewöhnten. Das starke Bildungsvermögen für metachromatische Körnchen sind wir geneigt, als eine ökonomisch-arterhaltende



Einrichtung der noch ziemlich obligat-parasitisch veranlagten Formen zu betrachten.

Herr Trautmann (Schlußwort):

Zu den Ausführungen der Herren Diskussionsredner darf ich nochmals feststellen, daß die Bebrütung, soweit nicht anders bemerkt, auf dem üblichen Löfflerschen Blutserum bei 35—36° C stattfand, und daß die zu prüfenden und die Kontrollstämme durchweg unter den gleichen Bedingungen (je eine Hälfte der gleichen Platte, Färbung auf dem gleichen Obtjektträger usw.) studiert wurden. Bis zu 12—14stündigem Wachstum wurde i. a. Löfflerfärbung, später die neue Neißerfärbung verwandt.

Die bizarren Körnchen der atypischen Form sind nicht zu vergleichen mit auch sehr stark ausgeprägter Körnchenbildung der sog. typischen Formen. Ich glaube die Abhandlungen über den Diphtheriebazillus in unsern deutschen Lehrbüchern so weit zu kennen, um sagen zu dürfen, daß sie die atypische Form in klarer Weise nicht beschrieben enthalten. Und Herrn Dale, der die in der deutschen Literatur verstreuten Arbeiten sowie die englische Literatur durchgesehen hat, ist gleichfalls eine bestimmte Angabe darüber nicht aufgestoßen.

Aber selbstverständlich sehen auch wir in der atypischen Form nur einen Gradunterschied, bedingt, wie schon gesagt, durch das Bestreben, sich durch die Körnchenbildung auf den wenig zusagenden Nährböden der Außenwelt zu behaupten. Mit zunehmender Anpassung fällt mehr und mehr die Körnchenbildung.

Diskussion:

Löffler (Greifswald): Zu der interessanten Mitteilung des Herrn Kollegen Trautmann möchte ich bemerken, daß, soviel ich mich entsinne, in dem großen Werke von Nuttall und Graham-Smith: The Bacteriology of Diphtheria solche abnorm große Polkörperchen erwähnt und abgebildet sind. Ich selbst habe beobachtet, daß die Polkörperchen bei manchen Stämmen auf einem etwas alkalischen Serum ganz außerordentlich stark sich entwickelten.

IX. B. Lipschütz (Wien):

Ueber einen mikroskopischen Befund bei Pemphigus vulgaris.

Meine Herren! Die Aetiologie des Pemphigus vulgaris ist bisher völlig dunkel geblieben. Wie bekannt, wurden zwei Theorien aufgestellt: die neuropathische und die parasitäre, es konnten jedoch weder für die eine noch für die andere positive, wissenschaftlich begründete Tatsachen angeführt werden. Bei diesem Sachverhalt dürfte es wohl angebracht sein, über jeden neuen Befund zu berichten, in der Hoffnung, endlich auf den richtigen Weg zu gelangen.

Wenn ich mir nun erlauben möchte, Ihnen über meine Pemphigusuntersuchungen zu berichten, so möchte ich ausdrücklich betonen, daß



ich mich der Deutung der zu beschreibenden Gebilde heute ganz enthalten will, daß ich vielmehr nur darauf Wert lege, Ihnen meine Präparate und Zeichnungen zu demonstrieren.

Der Blaseninhalt bei Pemphigus vulgaris wird nach den übereinsimmenden Angaben der Dermatologen als steril erklärt. Allerdings können geplatzte oder mehrere Tage alte Blasen Staphylo- oder Streptokokken enthalten; eine ätiologische Rolle für das Entstehen des Pemphigus vulgaris kann ihnen jedoch keinesfalls zugeschrieben werden.

Im sterilen Blaseninhalt von einer Reihe von Pemphigusfällen ist es mir gelungen, mit großer Regelmäßigkeit Gebilde nachzuweisen, die bisher noch nicht beschrieben worden sind und die ich mit dem Namen Cystoplasmen belegt habe. Charakteristisch für die Cystoplasmen sind im allgemeinen folgende 3 Momente: 1. ihr extrazelluläres Vorkommen; 2. die Art ihrer Vermehrung durch eine Art hantelförmiger Zerschnürung, so daß, wie Sie aus der Zeichnung entnehmen können, in gewissen Stadien der Teilung ein „Zwischenstück" deutlich zu sehen ist, das viel schwächer als das Cystoplasma gefärbt erscheint; 3. die Cystoplasmen färben sich ausschließlich nach Giemsa und Heidenhain. Am besten bewährte sich mir die feuchte Giemsamethode, nach welcher die Cystoplasmen tief dunkelrot, glattrandig, scharf konturiert hervortreten.

Morphologisch zeigen die Cystoplasmen in der Regel Birnform oder mehr in die Länge gestreckte oder selbst rundliche Formen. Ihre Größe beträgt 0,4 μ für den Breitendurchmesser, 0,6—1,5 μ für den Längendurchmesser.

Ihre Zahl zeigt Schwankungen, indem das eine Mal fast in jedem Gesichtsfeld 1—2—3 Cystoplasmen nachweisbar sind, das andere Mal nur ein längeres Suchen den Nachweis der Gebilde ermöglicht.

In 8 Fällen konnten die Cystoplasmen bisher gefunden werden, in einem vor wenigen Tagen untersuchten Pemphigusfall habe ich sie jedoch vermißt.[1])

In Kontrolluntersuchungen habe ich die Cystoplasmen nicht nachweisen können.

Meine Herren! Es war mein Bestreben, Ihnen in aller Kürze über die Ergebnisse meiner Pemphigusuntersuchungen einiges zu berichten. Dieselben sind noch nicht abgeschlossen und sollen durch Heranziehen eines reichlicheren Materials weiter fortgesetzt werden. Vielleicht gelingt es uns dann den Schleier zu lüften, der die Aetiologie dieser schweren Dermatose heute noch ganz bedeckt (vgl. auch meine Mitteilungen in der Wien. klin. Wochenschr. 1910).

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Nachträglich konnten auch in diesem Fall Cystoplasmen gefunden werden.



X. H. Conradi (Aus der kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Neunkirchen):

Ueber sterilisierende Wirkung des Chloroforms im Tierkörper.

(Ein Beitrag zur kausalen Therapie bei akuter und chronischer Typhusinfektion).

Der Typhusprozeß des Menschen wird durch Bakterien eingeleitet und unterhalten, die außerhalb des Körpers durch chemische Mittel leicht und rasch zerstörbar sind. Dennoch gehört die innere Desinfektion bei Typhus zu den schwierigsten Aufgaben der Chemotherapie. Alle Versuche, die bakteriogenen Infektionskrankheiten durch interne Desinfizientien zu heilen, sind vorläufig gescheitert. Allein diese Mißerfolge beweisen noch nicht die Aussichtslosigkeit des Versuches, auch bei bakteriellen Infektionen durch Sterilisierung wirkende Heilmittel aufzufinden. Nur eine kausale Therapie beseitigt radikal Krankheitssymptome und Krankheitserreger, sie koupiert die infektiöse Erkrankung und verhütet ihre Kontagiosität.

Die nachstehenden Tierexperimente stellen den ersten Versuch dar, bei der Gruppe der Narkotika und insbesondere dem Chloroform die Wirkungsstärke der intravitalen Desinfektion gegenüber pathogenen Bakterien festzustellen. Zugrunde lag die Vorstellung, daß bestimmte lipoidlösliche Narkotika zur inneren Desinfektion sich in besonderem Maße eignen, weil sie vermöge ihrer Lösungsaffinität zu den Zelllipoiden innerhalb kürzester Zeit sowohl die Bakterien wie die Körperzellen durchdringen. So war von vornherein die Möglichkeit gegeben, auch die intracellulären Krankheitskeime zu sterilisieren. Einen weiteren Vorteil bot die Flüchtigkeit der angewandten Substanzen, die zur Beschleunigung der Resorption und Wiederausscheidung beitrug.

Die desinfizierende Wirkung des Chloroforms in vitro stand bereits durch die Untersuchungen von Müntz,[1] De la Croix,[2] Salkowski,[3] M. Kirchner,[4] Lossen[5] u. a. fest. Schon $^1/_2$—1 proz. wässerige Chloroformlösungen töten innerhalb kurzer Zeit die vegetativen Formen der gewöhnlichen Saprophyten. Ferner gehen sporenlose Milzbrandkeime, Typhusbazillen, Staphylokokken sowie Choleravibrionen in Chloroformwasser schnell zugrunde. Ueber die Desinfektionskraft des Chloroforms im Organismus aber lag nur ein Versuch von Salkowski (Virchows Arch. a. a. O.) vor, der bei einem Hunde nach 4 Tage langer Verabreichung von je 200 ccm Chloroformwasser eine ge-

---

[1]) Zitiert nach M. Kirchner. Zeitschr. f. Hyg. 1890. Bd. 8. S. 467.

[2]) Ebenda.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1888. No. 16; ferner Virchow's Arch. 1889. Bd. 115. S. 339.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. 1890. Bd. 8. S. 465.

[5]) Lossen, Beiträge zur Kenntnis der desinfizierenden Wirkung des Chloroforms namentlich im gasförmigen Zustand. — Inaug.-Dissert. Heidelberg 1899.



wisse Abnahme der normalen Darmbakterien beobachtete. Sonstige Angaben über die Desinfektionswirkung des Chloroforms im Tierkörper waren nicht erhältlich.

Unsere nächste Aufgabe bestand darin, zu prüfen, ob und inwieweit der Ablauf der experimentellen Typhusinfektion durch Chloroform beeinflußt werden kann. Als Versuchstiere dienten Kaninchen, die intravenös mit beträchtlichen Mengen von Typhusbazillen infiziert wurden. Um die Einwirkung des Chloroforms auf die akute Typhusinfektion zu studieren, fand in der Mehrzahl der Versuche die Behandlung der Kaninchen ein oder mehrere Tage nach erfolgter Typhusinfektion statt. Eine zweite Versuchsweise hingegen sollte über die Heilungsmöglichkeiten der chronischen Typhusinfektion Klarheit schaffen, und zu diesen chemitherapeutischen Versuchen bei Bazillenträgern verwandten wir Kaninchen, die 25 Tage zuvor mit Typhusbazillen infiziert waren.

Die innerliche Darreichung des Chloroforms stößt auf Schwierigkeiten. Für unsere Zwecke kann die Inhalation dieses flüchtigen Mittels zunächst nicht in Betracht, weil eine exakte Dosierung der in den Kreislauf gelangenden Giftmengen nicht möglich ist. Noch weniger eignet sich die interne Anwendung des Chloroformwassers, weil hier das Chloroform 1:200 verdünnt und so eine therapeutisch wirksame Konzentration im Blute nicht erreicht wird. Auch die von Burkhardt[1]) versuchte intravenöse Einspritzung von Chloroformwasser empfiehlt sich nicht mehr, nachdem Küttner[2]) danach Thrombosen an der Infusionsstelle auftreten sah. Ferner verbietet sich die subkutane Injektion von Chloroform wegen ihrer Schmerzhaftigkeit, der leicht sich einstellenden Abszeßbildung und der unvollkommenen Resorption des Chloroforms vom Unterhautzellgewebe aus. Ich versuchte nun durch Einführung von Chloroformöl oder Chloroformmilch in das Rektum eine Desinfektion des Gesamtorganismus herbeizuführen. Bei dieser rektalen Applikationsweise gelangt das Chloroform sehr allmählich in den Kreislauf und verteilt sich nach und nach innerhalb der Gewebe. Eine plötzliche, übermäßige Zufuhr von Chloroform, ein rapider Anstieg der Giftkonzentration im Blut wird daher vermieden. Allein der Zusatz von Olivenöl oder Milch verlangsamt nicht nur die Resorptionsgeschwindigkeit des Chloroforms, sondern diese einhüllenden Stoffe schützen auch die Darmschleimhaut vor der nekrotisierenden Giftwirkung des Chloroforms.

Es kam nun darauf an, festzustellen, ob durch rektale Zufuhr von Chloroformöl oder Chloroformmilch bei dem typhusinfizierten Kaninchen eine Sterilisierung des Gesamtorganismus bewirkt wird. Zur Infektion der Kaninchen verwandte ich einen aus dem Blute eines Typhuskranken frisch isolierten, virulenten Typhusstamm, und zwar bei allen Versuchen folgende Infektionsdosis: von einer 20stündigen Typhusagarkultur je eine Normalöse pro kg Körpergewicht bei intravenöser Injektion. Bei strikter Einhaltung dieser subletalen Infektionsdosis war der Infektionsverlauf überaus regelmäßig. Unter den gewählten Versuchsbedingungen wiesen die intravenös infizierten Kaninchen mindestens 10 Tage lang

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1909. S. 1678 u. S. 2365.
[2]) Zentralbl. f. Chirurgie. 1910. No. 7. S. 234.



konstant Typhusbazillen in Leber, Galle, Herzblut und Knochenmark auf, häufig auch in Niere, Milz und Harn. Jenseits der 2. Woche nach der Infektion aber wurden die Befunde von Typhusbazillen in den Organen unbeständig, nur die Blasengalle enthielt dann stets noch Typhuskeime. Da somit innerhalb der ersten 10 Tage nach der Infektion mit absoluter Konstanz in bestimmten Organen der Versuchstiere Typhusbazillen fortwucherten, konnte eine etwaige, sterilisierende Wirkung des Chloroforms im Tierkörper experimentell dargetan werden.

Die ersten chemotherapeutischen Versuche an typhusinfizierten Kaninchen wurden mit Chloroformöl vorgenommen, und zwar 1 Volumteil Chloroform auf 4 Volumteile Olivenöl. Allein es stellte sich bald heraus, daß größere Mengen Olivenöl an sich den Kaninchendarm stark reizten, Hämorrhagien in der Schleimhaut des Mastdarms sowie fibrinöse, exsudative Entzündung des Bauchfells hervorriefen. Daher mußte von einer weiteren Verwendung des Chloroformöls im Tierversuch Abstand genommen werden. Statt dessen ward nunmehr das Chloroform in einem Gemenge von Milch und Rahm gelöst und zwar: 5 Volumteile Milch, 4 Volumteile Rahm und 1 Volumteil Chloroform Anschütz. Diese jedesmal frisch bereitete und tüchtig durchgeschüttelte Chloroformmilch diente zu sämtlichen ferneren Versuchen. Mittels eines weichen Nélatonkatheters und einer 10 ccm fassenden Pravazspritze ward die benötigte Chloroformmilch den in Bauchlage auf dem Operationsbrett befestigten Kaninchen in den Mastdarm langsam infundiert.

Die Dosis toxica des Chloroforms schwankte individuell.[1]) Manche Kaninchen vertrugen eine einmalige rektal verabreichte Chloroformmenge von 1—5 ccm, einige wenige allerdings gingen schon nach rektaler Einspritzung von 0,25 ccm Chloroform innerhalb 1—2 Tagen zugrunde. Im allgemeinen erwies sich eine in den Mastdarm des Kaninchens infundierte Gabe von 0,5 ccm Chloroform Chloroform + 4,5 ccm Rahmmilch bei tagelanger Verabreichung als unschädlich. Diese Dosis therapeutica wurde daher durchgehends für die weiteren Versuche verwandt. In der Regel reichte die Chloroformmenge von 0,5 cmm hin, um vom Mastdarm aus bei den Kaninchen ca. 1/2 Stunde nach Einlauf der Chloroformmilch eine leichte und schnell vorübergehende Narkose auszulösen. Die Behandlung der typhusinfizierten Kaninchen mit 0,5 ccm Chloroform Anschütz + 4,5 ccm Rahmmilch fand Tag für Tag kürzere oder längere Zeit hindurch statt. Jede Versuchsserie ward so angelegt, daß gleichzeitig eine ganze Reihe Kaninchen mit der gewählten Typhusdosis (1 Normalöse einer 20stündigen Agarkultur pro kg Versuchstier) intravenös injiziert wurden. Ein Teil der Kaninchen wurde dann mit Chloroform behandelt, der andere Teil der Versuchstiere blieb unbehandelt und diente zur Kontrolle. Die Resultate der Chloroformbehandlung bei frisch mit Typhusbazillen infizierten Kaninchen sind in Tabelle I (s. S. 148, 149 u. 150), die zur Kontrolle dienenden Befunde bei unbehandelten typhusinfizierten Kaninchen in Tabelle II (s. S. 150) zu-

[1]) Das Chloroform ist für unsere Versuchstiere (Mäuse, Katzen, Kaninchen) giftiger, als für den Menschen. Es ist daher Ostertag (Virchow's Archiv 1889. Bd. 118. S. 250) darin beizupflichten, daß das Chloroform niemals seinen Siegeszug durch die Welt angetreten hätte, wenn nicht hier der Versuch am Menschen dem Versuch am Tier vorangegangen wäre.



Tabelle I.

Die rektale Behandlung typhusinfizierter Kaninchen mit Chloroformmilch innerhalb der ersten Infektionstage.

No.	Gramm-Gewicht	Tag der Typhus-infektion	Tägliche Behandlung mit je 0,5 ccm Chloroform am?	Zeitpunkt der Tötung	Typhus-bazillen-befund in den Organen	Besondere Bemerkungen
1	2 000	11. I. 1910	12. I.	13. I.	positiv	
2	2 020	13. I.	14. I. 15. I.	16. I.	positiv	
3	2 570	16. I.	17. I. 18. I.	19. I.	negativ	
4	1 760	16. I.	17. I. 18. I.	19. I.	negativ	
5	2 520	20. I.	22. I. 23. I.	24. I.	positiv	
6	2 280	20. I.	22. I. 23. I. 24. I.	25. I.	negativ	
7	2 570	20. I.	21. I. 22. I. 23. I.	24. I.	negativ	
8	1 785	20. I.	21. I. 22. I. 23. I.	24. I.	positiv	Galle positiv, alle Organe negativ
9	1 820	21. I.	24. I. 25. I. 26. I. 27. I.	28. I.	negativ	
10	2 150	21. I.	24. I. 25. I. 26. I. 27. I. 28. I.	29. I.	negativ	
11	2 469	21. I.	22. I. 23. I. 24. I. 25. I. 26. I. 27. I. 28. I. 29. I. 30. I. 31. I. 1. II. 2. II.	4. II.	negativ	



No.	Gramm-Gewicht	Tag der Typhus-infektion	Tägliche Behandlung mit je 0,5 ccm Chloroform am?	Zeitpunkt der Tötung	Typhus-bazillen-befund in den Organen	Besondere Bemerkungen
12	2 360	21. I. 1910	24. I. 25. I. 26. I. 27. I. 28. I. 29. I. 30. I. 31. I. 1. II. 2. II. 3. II. 4. II.	5. II.	negativ	
13	1 780	21. I.	24. I. 25. I. 26. I. 27. I. 28. I.	29. I.	negativ	
14	3 020	21. I.	24. I. 25. I. 26. I. 27. I.	28. I.	positiv	Vereinzelte Typhusbazillen in der Nierenrinde
15	2 075	25. I.	27. I. 28. I. 29. I. 30. I. 31. I.	2. II.	negativ	
16	2 200	25. I.	28. I. 29. I. 30. I. 31. I. 1. II.	3. II.	negativ	
17	1 680	25. I.	30. I. 31. I. 1. II. 2. II. 3. II. 4. II.	5. II.	negativ	
18	1 930	1. II.	3. II. 4. II. 5. II. 6. II. 7. II. 8. II.	10. II.	negativ	
19	2 420	1. II.	4. II. 5. II. 6. II. 7. II. 8. II.	10. II.	negativ	

No.	Gramm-Gewicht	Tag der Typhus-infektion	Tägliche Behandlung mit je 0,5 ccm Chloroform am?	Zeitpunkt der Tötung	Typhus-bazillen-befund in den Organen	Besondere Bemerkungen
20	2 570	5. II. 1910	7. II. 8. II. 9. II. 10. II. 11. II. 12. II. 13. II. 14. II.	16. II.	negativ	
21	1 715	5. II.	7. II. 8. II. 9. II. 10. II. 11. II. 12. II.	14. II.	negativ	

Tabelle II.

Kulturelle Organbefunde bei typhusinfizierten Kaninchen (Kontrollversuche).

No.	Gramm-Gewicht	Tag der Typhus-infektion	Zeitpunkt der Tötung	Typhus-bazillen-befund in den Organen	Besondere Bemerkungen
1	1 900	11. I. 1910	13. I.	positiv	
2	2 450	13. I.	16. I.	„	
3	2 165	16. I.	19. I.	„	
4	1 830	20. I.	24. I.	„	
5	2 440	20. I.	24. I.	„	
6	2 110	21. I.	4. II.	„	
7	2 516	21. I.	4. II.	„	
8	1'475	28. I.	5. II.	„	
9	2 080	25. I.	5. II.	„	
10	2 335	1. II.	10. II.	„	
11	1 590	5. II.	16. II.	„	
12	2 268	5. II.	16. II.	„	

sammengestellt. Noch sei bemerkt, daß die während der Behandlung eingegangenen Kaninchen (unter 26 insgesamt 5 Versuchstiere) in die nachstehenden Tabellen nicht aufgenommen sind.

Die vorausgegangenen Tabellen I und II erbringen den Nachweis, daß typhusinfizierte Kaninchen durch tägliche



rektale Verabreichung von 0,5 ccm Chloroform + 4,5 ccm eines Milch- und Rahmgemenges von den Typhusbazillen vollkommen befreit wurden. Ein Vergleich der Tabelle I mit Tabelle II beweist mit aller Deutlichkeit die sterilisierende Wirkung der internen Chloroformbehandlung. Während sämtliche 12 unbehandelte Kaninchen vom 2.—14. Tage nach erfolgter Infektion die spezifischen Krankheitskeime in ihren Organen aufweisen, sind bei den mit Chloroform behandelten, tyhhusinfizierten Kaninchen innerhalb des gleichen Zeitraums von 21 Versuchstieren 16 frei von Typhusbazillen befunden worden. Werden gar nur die mindestens 5 mal mit Chloroform behandelten Versuchstiere berücksichtigt, so ist festzustellen, daß bei sämtlichen Typhustieren die Infektion durch die interne Chloroformtherapie zum Erlöschen gebracht wurde. Das Chloroform ist somit ein Mittel, daß die akute Typhusinfektion des Kaninchens radikal beseitigt.

Noch mußte geprüft werden, ob auch die chronische Typhusinfektion des Kaninchens unter der Chloroformtherapie erlischt. Die Ausführung dieser Versuche gestaltete sich folgendermaßen. Acht Kaninchen wurden in der nämlichen Weise, wie bei den vorausgegangenen Versuchen, mit Typhusbazillen intravenös infiziert. Nach 24 Tagen wurde jedes infizierte Kaninchen laparotomiert, mit besonders feiner Kanüle eine Punktion der Gallenblase vorgenommen und die Bauchhöhle wieder geschlossen. Einige Tropfen der Galle wurden hierauf auf Lackmusmilchzucker-Agarplatten ausgestrichen. Es ließen sich dann stets 24 Tage nach der Infektion Typhusbazillen in der Blasengalle nachweisen.[1] Einen Tag nach der Probepunktion wurden die typhusinfizierten Kaninchen der Chloroformbehandlung unterzogen. Die weiteren Einzelnheiten sind aus Tabelle ersichtlich.

Aus Tabelle III (s. S. 152) geht die Tatsache hervor, daß auch die experimentelle, chronische Typhusinfektion des Kaninchens durch die interne Chloroformtherapie geheilt werden kann. Es darf vermutet werden, daß in den mitgeteilten Versuchen die Lösungsaffinität des Chloroforms zu den Lipoiden der Galle zur Desinfektion der Gallenwege und Gallenblase geführt hat. Das Chloroform übt eine bilotrope Wirkung aus, es greift somit auch die schwer zugänglichen Herde der chronischen Typhusinfektion an und zerstört die parasitäre Existenz der in Galle eingehüllten Typhuskeime. Die Heilungsmöglichkeit der Typhusbazillenträger ist somit durch den Tierversuch erwiesen.

Die vorliegenden Untersuchungen werden über das theoretische Interesse hinaus auch praktische Bedeutung erlangen, wenn die aus Tierversuchen abgeleitete Chemotherapie zur Heilung der akuten und chronischen Typhusinfektion des Menschen beiträgt. Vor allem muß die Dosis therapeutica des Chloroforms für den Menschen ermittelt werden. Gegenwärtig zählt die interne Chloroformbehandlung wenig Anhänger

[1]) Auf dieses Fortwuchern der Typhusbazillen in der Gallenblase von Kaninchen nach intravenöser Injektion haben zuerst Blachstein (Johns Hopkins Hospital Bulletin 1891. Bd. 2. p. 96), W. H. Welch (ebenda p. 121) sowie Doerr (Centralbl. f. Bakteriologie. 1905. Bd. 39. S. 624) die Aufmerksamkeit hingelenkt.



(vgl. Schmiedeberg[1])). Allein es kann nicht zweifelhaft sein, daß die bisherige irrationelle Anwendungsweise die interne Chloroformtherapie

Tabelle III.

Die rektale Behandlung typhusinfizierter Kaninchen mit Chloroformöl 30 Tage nach der Infektion.

No.	Gramm-Gewicht	Tag der Typhus-infektion	Tag der Probe-punktion d. Gallen-blase	Tägliche Behandlung mit je 0,5 ccm Chloroform am?	Tag der Tötung	Typhusbazillenbefund in den Organen
1	1835	21. I. 1910	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II.	21. II.	negativ
2	2316	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II. 20. II.	21. II.	negativ
3	2580	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II. 20. II.	21. II.	negativ
4	2860	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II. 20. II. 21. II.	22. II.	negativ
5	1715	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II.	22. II.	negativ
6	2760	21. I.	14. II.	Unbehandelt	21. II.	positiv {Galle, Leber, Knochenmark
7	1695	21. I.	14. II.	„	21. II.	positiv (Galle)
8	2016	21. I.	14. II.	„	22. II.	positiv (Galle)

[1]) O. Schmiedeberg, Grundriß der Pharmakologie. Leipzig 1906. S. 64.



in Mißkredit gebracht hat.[1]) Ferner bewirkten irrige, aus den Tierversuchen hergeleitete Analogieschlüsse eine Ueberschätzung der Toxizität des Chloroforms für den Menschen. Für die innerliche, therapeutische Anwendung des Chloroforms bei dem Menschen sind meines Erachtens schon jetzt zwei Wege gangbar. Erstens ist es nach meinen bisherigen Erfahrungen möglich, bei dem Menschen Chloroformöl (Chloroform, Olivenöl āā) ohne Schädigung des Magendarmtraktus innerlich zu verabreichen. Wie schon die tägliche Erfahrung mit Oelklystieren lehrt, bewirkt das Oel bei dem Menschen keine Entzündung der Darmschleimhaut, wie im Tierversuch. Zweckmäßig erscheint es, Geloduratkapseln, die mit 0,5 ccm Chloroform Anschütz + 0,5 ccm Olivenöl gefüllt sind, innerlich an Typhuskranke und -bazillenträger zu verabreichen.[2])

Zweitens besteht noch die Möglichkeit, beim Menschen größere Mengen Chloroformöl (15 ccm Chloroform + 15 ccm Olivenöl in den Mastdarm zu injizieren. Denn das Oel hebt jede lokale nekrotisierende Giftwirkung des Chloroforms völlig auf. Ferner wird durch die Lösung des Chloroforms in Oel die Resorptionsgeschwindigkeit des rektal eingespritzten Desinfiziens derart verlangsamt, daß ein plötzlicher Anstieg der Giftkonzentration im Blute und eine hierdurch entstehende Lebensgefahr unter keinen Umständen eintritt. Vielmehr erfolgt vom Mastdarm aus die Resorption des Chloroformöls so zögernd, daß der zur Narkose erforderliche Chloroformgehalt des Blutes wohl nicht erzielt wird. Ob die interne Chloroformtherapie mit der Verwendung kleiner und häufiger Dosen (Geloduratkapseln) mehr erreicht, als durch einmalige rektale Verabreichung einer großen Chloroformölmenge, müssen weitere Untersuchungen lehren. Die Heilungsmöglichkeit der akuten und chronischen Typhusinfektion geht aus den mitgeteilten Tierversuchen hervor. Wir wissen jetzt, daß das Chloroform auch im Tierkörper eine sterilisierende Wirkung gegenüber Typhusbazillen ausübt. Ob indeß das Chloroform ein durch Sterilisierung wirkendes Heilmittel auch für den Menschen darstellt, entscheidet allein die klinische Erfahrung.

Diskussion:

v. Drigalski (Halle) frägt, ob die Aetzwirkung bei Rektumapplikation nicht durch das Chloroform verursacht bzw. ob der Kontrollversuch mit reinem Oel gemacht worden sei; ob ferner nicht bei Menschen durch Chloroformeingüsse Schleimhautschädigungen gesetzt würden.

Jacobsthal (Hamburg): Bei meinen Versuchen über intravitale Fettfärbung habe ich mit Erfolg den bei Mäusen durch Oel entstehenden Katarrh durch gleichzeitige Darreichung von Tannalbin usw. bekämpft. Es lohnte sich, dies auch beim Menschen zu versuchen.

---

[1]) Hierher gehört z. B. die von Stepp (Münch. med. Wochenschr. 1889. S. 128) auf Anregung Salkowski's versuchte Chloroformwassertherapie. Ebenso auch die von Schleich (Die Therapie der Gegenwart. 1909. S. 138) angegebene interne Behandlung mit einem Chloroformpulver, dem Desalgin. Der Autor erwartet von der Tagesdosis 0,24 g Chloroform desinfizierende Wirkungen!

[2]) Die Auflösung der Neunkircher Anstalt am 1. April d. J. setzte meinen therapeutischen Versuchen am Menschen ein vorzeitiges Ende. Neuerdings wird in der Kreisirrenanstalt Klingenmünster (Pfalz) auf meine Veranlassung die interne Chloroformtherapie bei chronischen Typhusbazillenträgerinnen angewandt. Vorderhand werden Geloduratkapseln (0,5 ccm Chloroform + 0,5 ccm Olivenöl) eingenommen und zwar 3 mal täglich je zwei Kapseln 1—2 Wochen lang.



Aber es fragt sich, ob die von Herrn Conradi vorgeschlagene Therapie beim Menschen nicht ihre schweren Bedenken hat. Man darf nicht vergessen, daß das Chloroform ein schweres Zellgift ist. Es gibt Menschen, die, wie besonders den Chirurgen bekannt ist, eine besondere Disposition zu Organverfettungen (Leber, Niere, Herz) zeigen. Nun ist der Befund von Typhusbazillen in der Galle schon ohnehin ein Beweis für vorherige Zellschädigung der Leberzellen. Man muß daher um so vorsichtiger damit sein, eventuell zu neuen Zellschädigungen durch Chloroformdarreichung Veranlassung zu geben.

Forster und seine Schüler Basenau und Asch haben gezeigt, daß bei intraarterieller Einfuhr von Bakterien die Ausscheidung aus der Niere erst mit der Ausscheidung von Eiweiß beginnt. Die gewöhnliche histologische Untersuchung beweist nichts für die Meinung von Kraus und Biedl, daß eine Schädigung der Zellen nicht eingetreten sei. Hierzu sind viel feinere Methoden, insbesondere die postvitale Beobachtung des ganz frischen Zellmaterials nötig, und diese stehen bisher aus.

Jos. Koch (Berlin): Es ist das Verdienst von Biedl und Kraus, mit exakten Methoden zuerst nachgewiesen zu haben, daß in das Blut eingeführte Bakterien sehr schnell durch den Urin und die Galle ausgeschieden werden können. Die genannten Autoren haben das als einen physiologischen Vorgang angesehen, weil sie keine Veränderungen der ausscheidenden Organe. weder makroskopisch noch mikroskopisch nachweisen konnten. Es handelt sich bei der Ausscheidung von Bakterien durch die großen Drüsen aber wohl stets um einen pathologischen Vorgang; die Bakterien selbst zeigen ein sehr verschiedenes Verhalten. Staphylokokken z. B. finden sich fast regelmäßig im Urin, Streptokokken nur selten. Bei den Traubenkokken ist es das Staphylotoxin, das die parenchymatösen Gewebe primär schädigt und so gewissermaßen die Epithelbarrieren für die Bakterien durchlässig macht, während bei den Streptokokken und anderen Bakterien es nicht der Fall ist. Hinsichtlich des Vorkommens der Typhusbazillen in der Galle macht J. Koch gegenüber Conradi darauf aufmerksam, daß es bei intravenös infizierten Kaninchen kein regelmäßiger Befund ist. Wenn man eine größere Anzahl von Tieren infiziert, fehlen die Typhusbazillen, wie Chiaolanza nachgewiesen hatte, in ca. 20—30 Proz. der Fälle.

Přibram (Wien): Die von Herrn Jacobsthal geäußerte Ansicht, daß eine erhöhte Durchlässigkeit für Bazillen auch dann vorhanden sein kann, wenn die Zellen keine erhebliche histologisch nachweisbare Veränderung aufweisen, scheint nach neueren Untersuchungen von Mayerhofer und mir an frischen Darmmembranen eine Stütze zu finden. Trotzdem brauchen wir kaum zu befürchten, daß eine mäßige Chloroformeinwirkung diese Permeabilität erhöhen könnte, da es viel wahrscheinlicher ist, daß die chloroformhaltigen Zellen schwer durchlässig für Bakterien sind, insbesondere für Bakterien, welche sich durch Geißeln fortbewegen, eine Tätigkeit, die ja durch Chloroform sicher gehemmt wird.

Conradi (Neunkirchen): Nur wenige Bemerkungen zur Toxität des Chloroforms für den Menschen. Gewiß ist das Chloroform ein Protoplasmagift, das bei Ueberdosierung dem Menschen schädlich werden kann. Aber die ausgedehnten Erfahrungen bei der Narkose beweisen, daß selbst relativ große Chloroformmengen ohne nachweisbare Schädigung vertragen werden. Daher ist zu erwarten, daß die dosis toxica des Chloroforms geringer ist, als die dosis therapeuthica.

v. Drigalski (Halle): Es kommt für Conradis Versuche nicht darauf an, ob Kaninchen bei intravenöser Infektion regelmäßig Typhusbazillen in den Gallenwegen aufweisen. Beim Menschen ist das, wie auch ich zeigen konnte, ganz regelmäßig und selbst dann noch der Fall, wenn die Untersuchung der Milz und des Knochenmarks keine Bazillen mehr ergibt. Es wäre daher in der Tat wichtig, wenn ein nicht toxisches bakterizides Mittel von besonderer Affinität zu den Leberzellen gefunden würde.

Außerdem: Kraus (Wien), Finkler (Bonn).



XI. Ph. **Kuhn** (für **Schuberg** und **Kuhn**) (Groß-Lichterfelde):

Meine Herren! Herr Schuberg und ich beschäftigen uns seit etwa Jahresfrist mit der Frage, welche Krankheiten durch einheimische Stechfliegen übertragen werden können. Ueber unsere ersten Ergebnisse habe ich im vorigen Jahre in der militärärztlichen Gesellschaft berichtet. Es war uns zunächst gelungen, Nagana, Rekurrens, Durine und einheimische Beschälseuche von kleinen Versuchstieren auf andere durch Stomoxysstiche zu bringen. Unsere Versuche sind in der Weise gelungen, daß wir die Fliegen in ihrem Saugakt am kranken Tier unterbrechen und noch hungrig auf ein gesundes Tier setzen. Es ist dies ein Vorgang, wie er im Stall häufig ist. Eine *Stomoxys calcitrans* braucht z. B. am Pferd bis zu einer Viertelstunde, um sich vollzusaugen. In dieser Zeit wird sie oft genug gestört und geht von einem Tier aufs andere. Es ist uns nun weiter gelungen, die Hühnerspirochätose, die Geflügelpocken, die Schlafkrankheit und die afrikanische Pferdesterbe zu übertragen und zwar bei der zuletztgenannten Krankheit von Pferd auf Pferd, bei den übrigen wurden kleine Versuchstiere benutzt.

Bei der Kürze der Zeit will ich auf das Nähere nicht eingehen, auch keine Ausführungen über die Bedeutung machen, die *Stomoxys calcitrans* etwa in der Natur spielt. Ich will nur erwähnen, daß unsere Versuche die Möglichkeit von Stallinfektionen beweisen. Wie wichtig das sein kann, lehrt besonders der Versuch bei der Pferdesterbe. Diese Krankheit steht allgemein in dem Rufe, nur auf der Weide verbreitet zu werden, eine Stallinfektion gilt als ausgeschlossen. Durch unseren Versuch ist jedoch nunmehr auf 2 Infektionen Licht geworfen, die ich ohne Impfung im Stall gehabt habe und die dunkel geblieben waren.

Diskussion:

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Ich glaube, daß die Uebertragung von Krankheiten durch Stechfliegen — wenn auch wohl verhältnismäßig selten — doch in gewissen Fällen praktisch in Betracht gezogen werden muß.

Abgesehen von **Milzbrand** scheint mir **Rekurrens** in dieser Beziehung in Betracht zu kommen. Denn es gelang **Schuberg** und **Kuhn** mit einem **einzigen** Stich die Uebertragung bei Ratten. In fast allen anderen Versuchen sind immer zahlreiche Fliegen angesetzt worden; auch ist stets der Saugakt unterbrochen und die Fliegen direkt übergesetzt. So günstige Bedingungen werden in der Natur nicht immer vorhanden sein.

Immerhin können bei Rekurrens vielleicht die so häufigen **Laboratoriumsinfektionen** auf diese Weise erklärt werden.

Jedenfalls ist es äußerst wichtig, daß diese Verhältnisse einmal systematisch geprüft werden.

Bongert (Berlin): Ich möchte auf die Uebertragungsmöglichkeit des Milzbrandes bei Schafen durch den Stich der Schaflausfliege (*Melophagus ovinus*) aufmerksam machen. Vor mehreren Jahren habe ich diese Uebertragungsweise des Milzbrandes bei Schafen experimentell dartun können.

Von einem an Milzbrand gestorbenen Schafe entnahm ich 4 Schaflausfliegen und setzte diese einem anderen gesunden Schafe hinter der Schulter an. Durch Zerquetschen einer solchen Fliege zwischen zwei Objektträgern und Färben konnte ich vorher nach-



weisen, daß diese Blut gesaugt hatten und auch Milzbrandbazillen in ihrem Intestinum enthielten. Nach Verlauf von 3 Tagen nach dem Ansetzen der Hautparasiten starb das Schaf an Milzbrand. Aus der karbunkulösen Entzündung der Haut und Unterhaut hinter der Schulter, wo die Insekten angesetzt worden waren, war zu folgern, daß die Milzbrandinfektion von dieser Stelle durch den Biß der Schaflausfliegen ihren Ausgang genommen hatte.

Man hat daher bei enzootischem Auftreten von Milzbrand in einer Schafherde mit diesen weitverbreiteten Hautparasiten der Schafe als Seuchenüberträger zu rechnen.

XII. Kraus, Ranzi und Ehrlich (Wien):

Experimentelles über Tumoren.

I. Die Versuche von Kraus, Pötzl, Ranzi und Ehrlich (Wien. klin. Wochenschr. 1909) über Hämolyse der roten Blutkörperchen bei pathologischen Prozessen durch Cobragift wurden fortgesetzt. Es ergab sich in Uebereinstimmung mit den früheren Versuchen, daß die roten Blutkörperchen der Menschen und Tiere bei pathologischen Prozessen gegen Cobragift ein anderes Verhalten zeigen als normale. Die Blutkörperchen werden in der Mehrzahl der Fälle zum Unterschied von normalen durch eine bestimmte Cobragiftmenge entweder langsamer oder rascher gelöst.

Bei gesunden Menschen zeigen die Blutkörperchen in 80 Proz. gleiches Verhalten und nur in 20 Proz. weicht es von der Norm ab. Bei Menschen, mit Karzinom und Syphilis behaftet, werden die Blutkörperchen in 78 und 73 Proz. der Fälle langsamer gelöst als normale und nur in 21 und 26 Proz. findet man normales Verhalten. Bei Sarkomkranken zeigt sich eine auffallende Beschleunigung der Hämolyse im Verhältnis zur Hämolyse der normalen Blutkörperchen (100 Proz).

Auch bei Tieren, welche mit Sarkom oder Karzinom geimpft wurden, findet man Aehnliches. Die Blutkörperchen gesunder Ratten verhalten sich in 71 Proz. der Fälle gleich, diejenigen der Sarkomratten nur in 40 und 60 Proz. zeigen ein abweichendes Verhalten. Bei gesunden Mäusen werden die Blutkörperchen in 75 Proz. gleichmäßig gelöst, dagegen nur in 50 Proz. bei Mäusen mit Karzinom.

II.[1]) Den experimentell subkutan erzeugten Sarkomen[2]) der Ratten folgen keine makroskopischen Metastasen in Organen. Die Implantation der Sarkome in Milz, Leber, Hoden zeigen aber, daß das Wachstum ein ganz gleiches ist wie subkutan. (Interessant ist, daß auch in Organen sowie subkutan das Wachstum ein konzentrisches ist, nicht infiltrierend. Das Organ wird durch den wachsenden Tumor verdrängt.)

---

[1]) Die folgenden Ergebnisse werden in einer ausführlichen Arbeit in der Zeitschrift für Immunitätsforschung mitgeteilt.

[2]) Das Rattensarkom wurde uns freundlichst von Herrn Doc. Salomon überlassen (H. Lewin).



III. Es ist bekannt, daß bei gesunden Ratten trotz Empfänglichkeit für das Rattensarkom manchmal eine Resistenz nachweisbar ist. Diese Resistenz äußert sich darin, daß die wiederholte subkutane Impfung ein negatives Resultat liefert. Werden solche subkutan resistente Tiere peritoneal infiziert, so wuchs sehr häufig der Tumor, so wie bei nicht resistenten der subkutan implantierte.

Es besteht danach in diesen Fällen eine lokalisierte Resistenz bei gesunden Tieren. Manchmal trifft man aber auch auf Tiere, die sich auch nach peritonealer Impfung als resistent erweisen. Solche lokale Resistenzen findet man aber nicht bei gesunden Tieren, sondern auch bei Tieren, die mit Tumoren geimpft sind.

Man weiß auf Grund zahlreicher Versuche (Ehrlich, Bashford, Bowell, Jensen, Lewin u. a.), daß ein bestehender subkutaner Tumor das Tier gegen eine zweite subkutane Impfung immun macht. Die zweite subkutane Impfung geht nicht mehr an. Solche Tiere sind aber, wie wir zeigen konnten, nach peritonealer Impfung ebenso empfänglich wie gesunde. Es wächst der peritoneal implantierte Tumor trotz subkutan bestehenden Tumor wie bei gesunden Tieren. Ein subkutaner Tumor erzeugt nur lokale Immunität (Resistenz), und zwar nur subkutan; der Organismus ist nicht immun.

Werden aber die Tiere mit peritonealem Primartumor peritoneal reinfiziert, so erweisen sie sich sowohl peritoneal, als auch gegen subkutane Impfung immun. Ein Peritonealtumor erzeugt demnach Immunität des Gesamtorganismus.

Diese Tatsachen sind insofern nicht ohne Interesse, als sie darauf hinweisen dürften, daß von der Art der künstlichen Immunisierungen gesunder Tiere mit Tumoren oder normalen Organen (Ehrlich, Bashford, Schoene u. a.) die Immunität abhängig sein konnte. Die bisherigen Versuche haben gelehrt, daß man durch subkutane oder peritoneale Immunisierung Immunität gegen subkutane Impftumore erzeugen kann. Ob aber diese Tiere bloß lokalisierte subkutane Immunität aufweisen, ist nicht nachgewiesen worden. Weitere Versuche werden lehren, ob nach subkutaner Immunisierung die Tiere auch gegen peritoneal organimplantierte Tumore immun sind und ob nicht etwa erst durch peritoneale Immunisierung ein Allgemeinimmunität zustande kommt.

Analoge Verhältnisse sind bei der Vaccine bekannt geworden (Kraus und Volk, v. Prowazek, Süpfle). Wir wissen, daß eine lokale Infektion der Cornea nur eine Immunität der Cornea erzeugt. Eine kutane Infektion erzeugt kutane Immunität, durch subkutane Immunisierung gelingt es, auch eine Immunität der Cornea und der Cutis zu erzeugen.



XIII. Uhlenhuth, Haendel u. Steffenhagen (Gr.-Lichterfelde):

Ueber Immunität bei Rattensarkom.[1])

Ich möchte Ihnen im folgenden über einige Ergebnisse experimenteller Untersuchungen berichten, welche ich im Kaiserlichen Gesundheitsamt zuerst mit Trommsdorff, später zusammen mit Haendel und Steffenhagen mit einem Rattensarkom durchgeführt habe, und zwar will ich mich hauptsächlich auf die beobachteten Immunitätserscheinungen beschränken.

Der Tumor, welchen wir der Liebenswürdigkeit Bashfords verdanken, eignete sich ganz besonders zu derartigen Studien wegen seiner bedeutenden sich ziemlich gleichbleibenden Virulenz. Er lieferte in den einzelnen Versuchsserien fast regelmäßig eine Ausbeute von mindestens 80 Proz., häufig sogar von 100 Proz. Die maximale Größe war jeweils in 3—4 Wochen erreicht.

Wie erwähnt, handelt es sich um ein Sarkom und zwar um ein großzelliges Spindelzellensarkom. Diesen Grundcharakter hat der Tumor die ganze Zeit unverändert beibehalten. Präparate, aus denen die Struktur ersichtlich, sind hier aufgestellt.

Bezüglich der Technik möchte ich vorausschicken, daß wir Ratten aus eigener Zucht verwandten und uns zur Uebertragung fast ausschließlich der Stückchenmethode bedienten. Der Tumor ging gleich gut an bei subkutaner oder intraperitonealer Implantation, auch bei subkutaner Impfung am Schwanze kam es, wie aus dem Bilde ersichtlich, zu einer strangartigen Geschwulstbildung. Ja selbst durch einfaches Einstechen mit einer Lanzette in den Tumor gelang bei sofortiger Einführung derselben unter die Haut eines anderen Tieres die Uebertragung, ebenso durch einfaches Verreiben von Tumorgewebe auf der enthaarten und skarifizierten Brusthaut der Ratten. Das positive Ergebnis des Lanzettenversuchs veranlaßte uns, auch Uebertragungsversuche mit Insekten (5—5 Stechfliegen [Stomoxys]) und Blutegeln anzustellen, die aber bisher zu keinem Erfolg geführt haben. Auch die intravenöse Impfung ist uns noch nicht geglückt, da die betreffenden Tiere bisher alle auf die Injektion eingingen. Ebenso waren die Fütterungsversuche erfolglos.

Was nun unsere Erfahrungen bezüglich der Immunität anlangt, so haben wir hier auch bei diesem Tumor zunächst zwei Erscheinungen festgestellt, welche bisher von allen Forschern, welche sich mit dem Studium von Geschwülsten befaßt haben, beobachtet wurden.

Einmal sahen wir, daß auch bei diesem Tumor, obwohl er in vielen Serien 100 Proz. Ausbeute gab, einzelne Tiere auf die Infek-

[1]) Vortrag gehalten von Uhlenhuth. Die ausführliche Publikation erscheint in den Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, s. auch Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. VI, Heft 4.



tion nicht reagierten und sich dann auch mit verschwindenden Ausnahmen allen späteren Nachimpfungen gegenüber als immun erwiesen.

Sodann sahen wir, daß auch schon zu einer beträchtlichen Größe herangewachsene Tumoren sich später doch spontan zurückbildeten, und daß dann alle Nachimpfungsversuche auch bei diesen Tieren erfolglos blieben. Mit der Tatsache der Möglichkeit einer Geschwulstimmunität war also auch bei diesem Tumor zu rechnen, wobei ich es allerdings dahingestellt lassen möchte, ob es sich bei den ersterwähnten Tieren wirklich um echte natürliche Immunität oder um eine eben infolge der Erstimpfung erworbene Immunität gehandelt hat.

Bei einem Teil der Tiere, bei denen es zu einer späteren spontanen völligen Rückbildung des Tumors kam, blieben die Tumoren in dem Wachstum gegenüber der bei den anderen Ratten derselben Serie beobachteten Entwicklung schon von vornherein etwas zurück, es kam bald zum Wachstumsstillstand und anschließend zu einem allmählichen Kleinerwerden bis schließlich zum völligen Schwund des Tumors. In anderen Fällen verlief der Rückbildungsprozeß etwas anders, zunächst hatten sich hier die Tumoren bei allen Tieren der Serie ganz gleichmäßig, oft schon zu etwa Taubeneigröße entwickelt, bis es dann bei einer oder der anderen Geschwulst zur Ausbildung einer trockenen Nekrose kam, die sich allmählich ausdehnte, ebenfalls zum Wachstumsstillstand und schließlich zur völligen Rückbildung des Tumors führte.

Bei den meisten Ratten erreichten die Tumoren aber ihre maximale Entwicklung bis etwa zu Kartoffel- oder Kastaniengröße. Ein Teil der Tiere ging dabei unter den Erscheinungen der Kachexie zugrunde. Besonders erwähnenswert ist es aber, daß doch auch bei den Fällen maximaler Geschwulstbildung schließlich immer das Auftreten von Nekrosen beobachtet werden konnte. Wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, begann dieselbe zentral und bestand zunächst nur in Kernschwund ohne wesentliche Entzündungserscheinungen.

Erst die Fortleitung des Prozesses nach der Oberfläche und dadurch bedingte bakterielle Infektionen hatten Eiterungen und entzündliche Demarkation zur Folge, in deren Verlauf dann die Tiere schließlich ebenfalls zugrunde gingen.

Die Beobachtung, daß die spontane Rückbildung sich an das Auftreten des nekrotisierenden Prozesses anschloß, veranlaßte uns nun, dieselben Vorgänge durch Anwendung verschiedenartiger Mittel künstlich hervorzurufen, um zu sehen, ob auf diese Weise durch allmähliche Einschmelzung und Resorption des Tumors ebenfalls Immunität erreicht wurde. Derartige Versuche sind mit einer ganzen Reihe lokal physikalisch oder chemisch wirkender Mittel oder durch eine Allgemeinbehandlung der Tiere angestellt worden und noch im Gange. Zu erwähnen sind die nekrotisierende Wirkung mancher Sera, die Wirkung von Fermenten, Organpräparaten, Bakterientoxinen, chemischen Agentien, Kälteeinwirkung, die spezifische Wirkung des Adrenalins auf die Gefäße, die wasserentziehende Eigenschaft des Alkohols usw. Im einzelnen möchte ich speziell die lokale Applikation der Pyocyanase erwähnen, mit der wir recht gute Ergebnisse gehabt haben und selbst kartoffelgroße Tumoren



noch zur Einschmelzung und Rückbildung bringen konnten. Es ist allerdings zu beachten, daß die Ratten im allgemeinen Pyocyanase schlecht vertragen, über 0,2 ccm darf nicht gegeben und dieselbe Dosis auch erst nach Verlauf von mehreren Tagen wiederholt werden. Am zweckmäßigsten hat sich uns die lokale Einspritzung dieser Menge in den Tumor in Zwischenräumen von 8 Tagen bewährt. Es kommt auf die Injektion zur Entwicklung eines der trockenen Gangrän vergleichbaren nekrotischen Prozesses ohne Entzündungserscheinungen, welcher die schubweise Abstoßung der nekrotischen Tumormassen zur Folge hat. Es bleibt schließlich ein nekrotischer Schorf und nach dessen Abfallen eine Narbe. In einzelnen Fällen wurde dieser Verlauf durch sekundäre bakterielle Infektionen gestört, es kam dann zur Eiterung und zu geschwürigem, jauchigem Zerfall des Tumors, was meist den Tod der Tiere zur Folge hatte. Im ganzen haben wir aber bei 12 Ratten eine trockene Abstoßung erreicht. Alle diese Tiere erwiesen sich späteren Nachimpfungen gegenüber als immun.

Um über die Frage des Zustandekommens der Immunität nun weitere Klarheit zu bekommen, untersuchten wir weiterhin zunächst das Verhalten von Ratten, welche plötzlich von gut ausgewachsenen 3 Wochen alten Tumoren durch Operation befreit wurden. Wir haben zu diesen Versuchen eine größere Anzahl von Tieren aus verschiedenen Serien herangezogen. Die Ratten wurden operiert und entweder mit dem eigenen oder einem anderen Tumor sofort oder nach Verlauf einiger Zeit an einer anderen Stelle nachgeimpft.

Wir erhielten nun in ganz übereinstimmender Weise bei allen diesen operierten und nachgeimpften Ratten das auffallende Ergebnis, daß auch diese Tiere sich den Nachimpfungen gegenüber als immun erwiesen, ganz einerlei, ob dieselbe sofort oder später, mit dem eigenen oder mit einem fremden Tumor erfolgt war. Voraussetzung war nur, daß der Tumor durch die Operation so entfernt wurde, daß an der Geschwulststelle sich kein Rezidiv entwickelte.

Kam es dagegen zum Rezidiv, so sahen wir umgekehrt und zwar in geradezu gesetzmäßiger Weise neben den Rezidiven, die sich übrigens durch eine besondere Wachstumsenergie auszeichneten, immer auch Tumoren an der Stelle der Nachimpfung sich entwickeln. — Wie ist diese auffällige Erscheinung zu erklären? Das Einfachste wäre ja, zu sagen, alle die Ratten, bei denen bei der Nachimpfung kein Tumor mehr anging, waren eben immun, während die Tiere, bei denen es zur Rezidivbildung und auch zur Entwicklung des zweiten Tumors kam, noch keine Immunität erlangt hatten. Gegen diese Auffassung spricht aber die Beobachtung, daß wir es ganz in der Hand hatten, Rezidive und damit auch Wachstum des sekundär geimpften Tumors zu erzeugen.

Wie wir uns in besonders angesetzten Versuchen überzeugen konnten, genügte das absichtliche Zurücklassen auch nur einer minimalen Menge Geschwulstgewebes bei der Operation, um stets diesen Effekt zu erzielen. Umgekehrt sahen wir bei Versuchen, bei denen nach der Operation die ganze Wundhöhle mit glühendem Platinspatel sorgfältig ausgebrannt war, kein Rezidiv und entsprechend auch keine positive Nachimpfung.



Mit der Annahme einer atreptischen Immunität ließ sich jedenfalls dieses mit unserm Tumor erhaltene Ergebnis nicht in Einklang bringen. Die Verhältnisse mußten hier anders liegen.

Wir versuchten uns daher zunächst durch systematische Untersuchungen Klarheit darüber zu verschaffen, wie sich die Dinge gestalten, wenn erstens Tiere gleichzeitig an zwei und drei Stellen mit Tumormaterial infiziert wurden, sowie zweitens, wenn während der Entwicklung eines primär gesetzten Tumors zu verschiedenen Zeiten nach 1, 2 und 3 Wochen eine zweite Implantation von Geschwulstgewebe an anderen Stellen erfolgt.

Zu diesem Zwecke setzten wir zunächst drei Serien von Ratten an; die Tiere der ersten Serie wurden an einer Stelle (an der Brust), die der zweiten gleichzeitig an Brust und Rücken, also an zwei Stellen und die der dritten an Brust, Bauch und Rücken (also an drei Stellen) mit demselben Tumormaterial geimpft. Die diese Serien umfassende Versuchsreihe lieferte ein in verschiedener Hinsicht interessantes Ergebnis. Einmal zeigte es sich, daß eine doppelte und auch dreifache gleichzeitige Geschwulstimplantation, wie sie in den Serien II und III vorgenommen war, vollkommen erfolgreich sein konnte. Ja bei den an zwei Stellen mit Erfolg infizierten Tieren der Serie II kam es zu einer besseren und schnelleren Geschwulstentwicklung als bei den allein an der Brust geimpften Ratten der Serie I; und in Serie III bei den erfolgreich an drei Stellen geimpften Tieren war das Geschwulstwachstum sogar noch stärker ausgesprochen als bei den doppelt implantierten Tieren der Serie II. Auch diese Beobachtungen lassen sich mit der Annahme einer atreptischen Immunität nicht recht in Einklang bringen. Etwas anders gestaltet sich allerdings das Bild, wenn wir die einzelnen Serien hinsichtlich ihrer prozentualen Impfausbeute betrachten. Danach erhielten wir in Serie I von einmal geimpften Tieren eine Ausbeute von 83 Proz., in Serie II von an zwei Stellen infizierten Tieren eine Ausbeute von 88 Proz., in Serie III bei dreimaliger gleichzeitiger Implantation nur eine Ausbeute von 50 Proz. Ich glaube, daß die geringe Ausbeute der Serie III kaum auf einem Zufall beruht und werde auf die Erklärung gleich noch zurückkommen. Besonders betonen möchte ich aber, daß hier bei den beiden Parallelreihen in Serie II und III ebenfalls immer entweder die Tumoren an allen Stellen gleichmäßig oder überhaupt an keiner Stelle angingen.

Was schließlich nun unsere Untersuchungen anlangt, wie sich während der Entwicklung eines primär gesetzten Tumors die Dinge bei der Implantation von Geschwulstgewebe zu verschiedenen Zeiten an einer anderen Stelle gestalten, so haben wir nach dieser Richtung zwei größere Versuchsreihen von 40 bzw. 60 Ratten angesetzt. In jeder wurden jeweils die Tiere subkutan an der Brust vorgeimpft, die Nachimpfung erfolgte serienweise nach 1, 2, 3 und 4 Wochen, bei den Tieren der ersten Reihe am Rücken, bei denen der zweiten Reihe am Bauche. Es ergab sich, daß von den Nachimpfungen am Rücken nach der ersten Woche 40 Proz., nach zwei Wochen 20 Proz. positiv, nach der dritten und vierten Woche alle negativ waren. Entsprechend erhielten wir bei den Nachimpfungen am Bauche nach der ersten Woche eine Ausbeute von 40 Proz., nach der zweiten von 30 Proz.,



während nach der dritten Woche bereits alle Nachimpfungsversuche wieder ein negatives Resultat hatten.

Gleichzeitig mit sämtlichen Nachimpfserien waren Kontrollserien frischer Tiere geimpft, welche die gewöhnliche Ausbeute zwischen 80 bis 100 Proz. lieferten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das übereinstimmende Ergebnis der beiden Reihen darauf hinweist, daß wir es hier mit gesetzmäßigen Vorgängen zu tun haben.

Im einzelnen darf ich vielleicht noch kurz auf folgende Beobachtung bei diesen Versuchsreihen aufmerksam machen. Die nachgeimpften Tumoren gingen hauptsächlich bei solchen Tieren an, bei denen auch die primären Tumoren schon ein gutes Wachstum zeigten, dagegen blieben im Durchschnitt bei denjenigen Ratten, bei denen die Nachimpfungen nicht angingen, auch die primären Tumoren im Wachstum zurück und neigten in verschiedenen Fällen zu Nekrosen und Rückbildungen.

Wie sind nun alle diese Erscheinungen zu erklären? Ob wir von vornherein bei einer Anzahl der Tiere eine angeborene Immunität annehmen können, läßt sich, wie ich erwähnte, nicht mit Sicherheit entscheiden. Daß sich aber infolge der Geschwulstimpfung eine erworbene und zwar stark ausgesprochene Immunität ausbilden kann, ist keine Frage, dafür sprechen unsere Beobachtungen, wonach Ratten, bei welchen die Tumoren spontan zurückgegangen oder von uns künstlich zur Einschmelzung gebracht waren, sich allen späteren Nachimpfungen gegenüber immun erwiesen. Dafür spricht ferner das refraktäre Verhalten aller rezidivfrei operierten Tiere gegenüber sämtlichen Nachimpfungsversuchen.

Wir können uns nun die Vorgänge beim Zustandekommen der Immunität für unseren Fall meines Erachtens wohl am besten in der Weise vorstellen, daß es auf die Implantation von Geschwulstgewebe zu Wechselbeziehungen zwischen den wuchernden Geschwulstzellen und dem Organismus kommt, daß sich der Organismus den ersteren gegenüber zu schützen sucht. Reagiert der Organismus schon von vornherein besonders kräftig durch die Bildung solcher Stoffe, so kann schon bei der ersten Impfung die Geschwulstentwicklung unterdrückt und überhaupt verhindert werden. Erfolgt die Entstehung der Abwehrstoffe nur allmählich und in schwächerem Grade, so finden die Geschwulstzellen Zeit zur Vermehrung, es kommt zur Entwicklung und Wachstum des Tumors. Die Abwehrbestrebungen des Organismus hören aber damit natürlich noch nicht auf, sondern es kommt im Gegenteil während und infolge des Geschwulstwachstums noch zu einer intensiveren antagonistischen Wechselwirkung. Auch jetzt noch können in diesem Kampfe die Abwehrstoffe des Organismus schon während der Entwicklung der Geschwulst die Oberhand gewinnen, es kommt dann zunächst zum Wachstumsstillstand, zur Nekrose mit anschließender Rückbildung und schließlich zum völligen Schwinden des Tumors. Hierbei kann der Organismus durch Anwendung von die Tumorzellen schädigenden Mitteln, wie z. B. von Pyocyanase unterstützt werden. Die nach Resorption oder Abstoßung des Tumors im Körper noch vorhandenen Schutzstoffe verhindern dann bei späteren Nachimpfungen die Geschwulstentwicklung. Entsprechend liegen die Verhältnisse bei der nach rezidivfreier Operation gefundenen



Immunität. Hier wurde der Körper in seinem Kampfe nicht durch künstliche Einschmelzung des Tumors unterstützt, sondern durch die Operation auf einmal von der Geschwulst befreit; die während der Geschwulstentwicklung in beträchtlicher Menge gebildeten Antistoffe vermögen nunmehr über neu implantiertes Tumorgewebe Herr zu werden; die Tiere sind ebenfalls immun. Ganz anders liegen natürlich die Verhältnisse, wenn durch die Operation der primäre Tumor nicht vollständig entfernt wurde. Man muß wohl annehmen, daß während eines länger dauernden Tumorwachstums bei der antagonistischen Wechselwirkung zwischen ihm und dem Organismus auch die Geschwulstzellen der sich weiter entwickelnden Geschwulst, welche ständig unter der Einwirkung der Abwehrstoffe stehen, sich allmählich eine gewisse Anpassungsfähigkeit und auch eine gewisse Resistenz diesen Stoffen gegenüber erwerben, und daß mit darauf ihre Fähigkeit zu weiterer Wucherung und Vermehrung trotz der Abwehrbestrebungen des Organismus beruht. Wird daher durch die Operation der primäre Tumor nicht vollständig entfernt, so wird durch den Eingriff dem Kampfe zwischen Organismus und dem Geschwulstgewebe kein Ende bereitet. Es bleiben im Organismus Tumorzellen zurück, welche, wenn ich so sagen darf, serumfest sind und außerdem nach der Entfernung der Hauptmasse der Geschwulst durch die Operation auf ihrem alten Mutterboden jetzt sogar unter bessere und günstigere Ernährungsbedingungen gesetzt sind als sie es zuvor beim Bestehen des ganzen primären, bereits zur maximalen Größe ausgewachsenen Tumors waren.

Deshalb zeichnen sich auch diese Geschwulstzellen, wie wir bei allen Rezidiven gleichmäßig feststellen konnten, durch eine so besonders starke Wachstumskraft aus und daher kommt es bei den Rezidiven zu dieser gegenüber der stagnierenden Wachstumsenergie der maximal entwickelten Tumoren so besonders auffallenden schnellen und reichlichen Zellwucherung, welche jetzt den Kampf gegen die vorhandenen Abwehrstoffe nicht nur erfolgreich aufnehmen, sondern dieselben auch so vollständig paralysieren kann, daß selbst ein an einer anderen Stelle gesetzter zweiter Tumor nunmehr noch die Möglichkeit zur Entwicklung findet. So wird die stets gemachte Beobachtung der geradezu in gesetzmäßiger Weise auftretenden gleichzeitigen Entwicklung von Rezidiv und nachgeimpftem Tumor ohne weiteres verständlich. Daß beim Ausbleiben des Rezidivs aber auch selbst eine mit dem eigenen (also auch serumfesten) Tumor gesetzte Nachimpfung an anderer Stelle ebenfalls erfolglos bleibt, erklärt sich dadurch, daß durch die rezidivfreie Operation einmal alle Abwehrstoffe des Organismus frei verfügbar werden, und ferner, daß das von seinem Mutterboden losgelöste Tumorgewebe durch die Einpflanzung an anderer Stelle in seiner Ernährung und seinen Entwicklungsbedingungen so gestört und geschädigt wird, daß es unter diesen ungünstigen Bedingungen im wechselseitigen Kampfe unterliegen muß.

Mit dieser Auffassung stehen auch unsere Beobachtungen über das Angehen einer sekundären Implantation von Geschwulstgewebe bei periodischen Nachimpfungen während der Entwicklung eines primären Tumors in völligem Einklang. Nach 8 tägigem Bestehen eines



primären Tumors sind bereits bei einer Anzahl von Tieren Schutz- und Abwehrstoffe in solcher Menge gebildet, daß es bei ihnen zur Entwicklung einer sekundären Geschwulst nicht mehr kommt. Die Impfausbeute sank daher von 100 und 80 Proz. auf 40 Proz. in dieser Serie; immerhin sind aber diese Stoffe auch nicht bei allen Tieren in ausreichender Weise ausgebildet, so daß in der erwähnten Prozentzahl der Fälle noch ein Wachstum des sekundären Tumors eintritt. Nach 14tägigem Wachstum des primären Tumors verfügen nur 30 bzw. 20 Proz. der Tiere noch nicht über genügende Schutzstoffe, um das Angehen eines zweiten Tumors zu verhindern, während nach der 3. Woche bereits bei allen Tieren Immunität gegenüber einer sekundären Geschwulstimplantation eingetreten ist, die sich bei rezidivfreier Operation des primären Tumors dann auch allen anderen erneuten Nachimpfungsversuchen gegenüber, wie wir gesehen haben, geltend machen kann.

Was endlich nun die Beobachtung anlangt, daß in der Serie, in welcher die Tiere gleichzeitig an drei Stellen geimpft waren, die Impfausbeute auf 50 Proz. gefallen war, so könnte man ja vielleicht an ein zufälliges Ergebnis denken; man könnte dasselbe aber auch in der Weise deuten, daß durch die an drei Stellen gesetzte Implantation bei einem größeren Teil der Tiere wie sonst die Ausbildung von Abwehrstoffen in besonders starkem Maße angeregt wurde, so daß in diesem Falle schon bei der einen Hälfte der geimpften Tiere die Geschwulstentwicklung von vornherein unterdrückt werden konnte, während bei der anderen der Organismus in seinen Abwehrbestrebungen unterlag und es so an allen drei Stellen zu einem besonders starken Tumorwachstum kommen konnte.

Was die Dauer der Immunität anlangt, so können wir nur sagen, daß dieselbe mindestens sich über $1^1/_2$ Monate erstreckte. Einen längeren Zeitraum bis zur Nachimpfung haben wir noch nicht verstreichen lassen, da wir bestrebt waren, die Immuntiere durch eine systematische Weiterbehandlung hochzutreiben, um auch passive Immunisierungsversuche sowie weitere Untersuchungen zum Nachweis etwaiger Antikörper im Reagenzglas anstellen zu können. Das letztere ist uns bisher nicht gelungen. Ebenso haben wir mit passiven Immunisierungsversuchen bisher keinen Erfolg gesehen; wir hatten im Gegenteil sogar den Eindruck, als ob bei den mit Immunserum vorbehandelten Tieren die Tumorentwicklung und das Tumorwachstum begünstigt gewesen wäre, eine Beobachtung, welche in gewisser Hinsicht vielleicht als eine Ueberempfindlichkeitserscheinung gedeutet werden könnte.

Diskussion:

Sticker (Berlin): Bei der Kürze der Zeit ist es unmöglich auf die durch die Mitteilungen von Kraus angeregte Frage der Immunitätserscheinungen bei den experimentellen Geschwülsten näher einzugehen. Alle, welche sich für diese Frage interessieren, muß ich daher auf eine zusammenfassende Arbeit „Die Immunität und die spontane Heilung der Krebskrankheit nach den Ergebnissen der modernen experimentellen Forschung" aufmerksam machen, welche ich im 7. Bande der Zeitschrift für Krebsforschung veröffentlichte. Ich begnüge mich heute die dort gebrachten Schlußsätze anzugeben, welche also lauten: Der Tierkörper kann gegen übertragbare Geschwülste aktiv und passiv immunisiert werden. Die spontane Heilung einer übertragenen örtlichen Geschwulst hat eine allgemeine Immunität des Körpers im Gefolge. Eine maligne Geschwulst ver-



ursacht eine zeitlang eine partielle, eine Zonenimmunität, d. h. außerhalb der Geschwulstzonen erweist sich das übrige Körpergebiet immun.

Die Zonenimmunität geht bei der Spontanheilung in eine allgemeine Immunität über und verschwindet bei dem progressiven Verlauf.

Haendel (Groß-Lichterfelde): Zu den Ausführungen des Herrn Prof. Sticker möchte ich bemerken, daß sich auch durch die Annahme einer Zonenimmunität, unsere von Herrn Geheimrat Uhlenhuth mitgeteilten, bei den Sarkomuntersuchungen gemachten Beobachtungen, nicht befriedigend erklären lassen. Sofern die Tiere noch keine Immunität erlangt hatten, gingen die nachgeimpften Tumoren überall an, ganz einerlei an welcher Stelle die Nachimpfung erfolgt war, ob am Rücken oder am Bauche. Wie soll man sich ferner die nach rezidivfreien Operationen, gerade auch nach Operationen, bei welchen die Bildung eines Hämatoms sicher ausgeschlossen werden konnte, beobachtete Immunität mittelst der Annahme einer Zonenimmunität erklären?

Auch die Auffassung, der, wenn ich recht verstanden habe, Herr Prof. Kraus zuneigt, daß nur eine spezielle Gewebsimmunität vorliegt, erklärt nicht alle Erscheinungen, da wir auch nach primärer subkutaner Implantation dann Immunität auch gegenüber intraperitonealen Nachimpfungen beobachtet haben.

Die bei dem Studium des Rattensarkoms beobachteten Verhältnisse können nun aber keineswegs ohne weiteres auch auf andere Geschwülste übertragen werden, sie besitzen zunächst nur für den untersuchten Tumor Geltung.

Sticker (Berlin): Bezüglich der interessanten Befunde von Uhlenhuth möchte ich bemerken, daß die beobachtete Immunität nach operativer Entfernung der Tumoren im Gegensatz steht zu den von mir, Schöne und amerikanischen Forschern erhobenen Befunden. Die verschiedenen Befunde erklären sich aber vielleicht aus der verschiedenen Natur der zur Ueberimpfung benutzten Tumoren, aus welchem Grunde es notwendig erscheint, eine Verallgemeinerung der Schlußfolgerungen zu unterlassen und die Tumorarten (Jensenscher Mäusetumor, Jensenscher Rattentumor, Stickers Hundesarkom usw.) genau anzugeben.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Es muß besonders betont werden, daß sich unsere Immunitätsversuche vor den bisher gemachten dadurch unterscheiden, daß sie mit großen Serien und unter Einhaltung bestimmter Zeiträume ausgeführt sind. Dadurch erklären sich vielleicht die Differenzen in den Angaben bezgl. der Immunität. Auch beziehen sich unsere Angaben lediglich auf das sehr virulente Rattensarkom von Bashford. Die Immunität tritt hier* nach ca. 3 Wochen auf und ist eine ganz außerordentlich eklatante, bei Operationen unter der Voraussetzung, daß alles entfernt ist. Das mahnt auch dazu, bei Operationen alles zu exstirpieren und nicht — wie es nach den Versuchen von Sticker zweckmäßig erscheinen könnte — etwas (eine Drüse) stehen zu lassen.

Wir können, wie gesagt, diese Immunität nur für unseren Tumor beweisen, beim Karzinom liegen die Dinge sicher auch anders; dafür sprechen auch die Befunde der atreptischen Immunität von Ehrlich, die wir bei unserem Tumor nicht konstatieren konnten.

Küster (Freiburg i. B.) möchte seine Ansicht dahin aussprechen, daß die Unterschiede in den Immunitätsverhältnissen bei Tumoren betr. Mehrfachimpfungen und Wiederimpfungen nach Exzision des primären Tumors wohl durch die Verschiedenheit der verwandten Tumoren zu erklären sind. Bei dem Freiburger hämorrhagischen Mäusekarzinom ließen sich Doppelimpfungen und Wiederimpfung 8 Tage nach der Exzision des Primärtumors durchführen.

Außerdem: Kraus (Wien).



XIV. Sobernheim (Berlin):

Das agglutinatorische Verhalten der Enteritisbakterien.

Untersuchungen an Paratyphus- und Gärtnerstämmen hatten, wie bereits im vorigen Jahre berichtet, eine Reihe von Unregelmäßigkeiten bei der Agglutinationsprüfung ergeben. Das weitere Studium dieser Verhältnisse ließ immer wieder neue, höchst eigentümliche Komplikationen zutage treten und führte schließlich zu Beobachtungen, die von theoretischer und praktischer Bedeutung sind. Ueber die wesentlichen Ergebnisse der in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Seligmann ausgeführten Arbeiten haben wir bereits in einer vorläufigen Mitteilung [1]) kurz berichtet; die ausführliche Veröffentlichung und Besprechung unserer Versuchsprotokolle wird demnächst in der Zeitschrift für Immunitätsforschung erfolgen. Ich möchte an dieser Stelle nur diejenigen Befunde, welche mir besonders wichtig erscheinen, mit einigen Worten erläutern. Drei Beobachtungen kommen hier vor allem in Betracht.

I. Das erste ist die Tatsache, daß die Kulturen zweier Gärtnerstämme, Rumfleth und Haustedt, einen einheitlichen und konstanten Charakter vollkommen vermissen ließen. Sie reagierten anfänglich, als sie in unseren Besitz gelangten, auf kein einziges Gärtnerserum in typischer Weise und lieferten ihrerseits ein Serum (Rumfleth), das nur diese beiden Stämme, sonst aber weder Gärtner- noch Paratyphusbakterien agglutinierte. Später, nach einigen Monaten, wurden die Kulturen für Gärtnerserum agglutinabel, reagierten aber auch noch auf ihr eigenes Spezialserum. Eine Analyse mittels des Agarplattenverfahrens zeigte nunmehr, daß die Kulturen aus biologisch ganz differenten Bakterien zusammengesetzt waren, die sowohl bei der Agglutination als anch in kultureller Hinsicht sehr deutliche Unterschiede aufwiesen. Von den Tochterkulturen wurden einige Stämme vollkommen typisch, wie echte Gärtnerstämme, durch Gärtnerserum agglutiniert, andere blieben gänzlich unbeeinflußt, wieder andere nahmen eine Mittelstellung ein. Mit Vertretern der beiden Extreme (Rumfleth IV, Rumfleth V, Haustedt V, Haustedt VII) wurden Sera hergestellt. Die Ergebnisse der Agglutinationsprüfung sind aus der folgenden tabellarischen Zusammenstellung ersichtlich. Der zum Vergleich aufgeführte Gärtnerstamm, ebenso wie das Gärtnerserum, dienen nur als Paradigma für zahlreiche Gärtnerkulturen und -sera, die sich in dieser Hinsicht im wesentlichen gleichartig verhielten.

Hiernach enthielten die Ausgangskulturen neben echten Gärtnerbakterien (Rumfleth IV und Haustedt VII) auch solche Arten (Rumfleth V, Haustedt V), die nach ihrem agglutinatorischen Verhalten und ihrer agglutinogenen Fähigkeit von den ersteren absolut verschieden waren. Trotzdem handelte es sich nicht etwa um eine Verunreinigung, sondern lediglich um modifizierte und in ihren ganzen

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1910. No. 8.



biologischen Eigenschaften dem Gärtnertypus stark entfremdete Gärtnerbazillen. Dies ergab sich schon von vornherein mit größter

Tabelle I.

Gärtnerserum

	100	200	500	1000	2000
Rumfleth IV	+++	+++	+++	+++	++
Rumfleth V	−	−	−	−	−
Haustedt V	−	−	−	−	−
Haustedt VII	+++	+++	+++	++	∓
Gärtner	+++	+++	++	++	+

Tabelle II.

	Serum Rumfleth IV					Serum Haustedt VII				
	100	200	500	1000	2000	100	200	500	1000	2000
Rumfleth IV	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++
Rumfleth V	−	−	−	−	−	+	∓	−	−	−
Haustedt V	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
Haustedt VII	+++	+	+	+	∓	+++	+++	+++	+++	++
Gärtner	+++	+++	+++	+	∓	+++	+++	+++	+++	++

Tabelle III.

	Serum Rumfleth V					Serum Haustedt V				
	100	200	500	1000	2000	100	200	500	1000	2000
Rumfleth IV	+++	++	∓	−	−	+++	++	−	−	−
Rumfleth V	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	++	+
Haustedt V	+++	+++	+++	+	∓	+++	+++	+++	++	+
Haustedt VII	+++	∓	−	−	−	+++	++	−	−	−
Gärtner	∓	−	−	−	−	+++	++	−	−	−

Wahrscheinlichkeit aus dem äußeren Zusammenhang, wurde aber durch gewisse Beobachtungen direkt bewiesen. Es zeigte sich nämlich, daß



einer der atypischen Stämme, Haustedt V, allmählich eine Rückbildung zum Gärtnertypus durchmachte, indem er die spezifische Agglutinierbarkeit für sein eigenes Serum langsam einbüßte, dafür nun aber durch Gärtnerserum agglutiniert wurde, was vorher, wie erwähnt, niemals der Fall gewesen. Wir sahen also an diesem Stamme unter unseren Augen den gleichen Umwandlungsprozeß sich vollziehen, der sich ursprünglich an der Ausgangskultur abgespielt hatte. Ferner aber lieferte uns dieser Stamm, bei Verwendung lebender Bakterien, ein Serum, das ganz den Charakter eines Gärtnerserums trug, im Gegensatz zu dem in der Tabelle angeführten, mit toten Bakterien gewonnenen Serum, und endlich sprechen neuere Beobachtungen dafür, daß der Stamm Haustedt VII umgekehrt eine Annäherung an den Typus Haustedt V erfährt. Nochmals betont sei auch die in diesem Zusammenhang besonders wichtige Tatsache, daß hier nur die Extreme besprochen wurden, daß wir also bei der Analyse unserer Stammkulturen die verschiedensten Zwischenstufen vom Typus Haustedt V (Rumfleth V) zum Haustedt VII (Rumfleth IV) verfolgen konnten.

II. Als ungewöhnlicher Befund erscheint sodann die weitere Feststellung, daß die mit den Stämmen Haustedt V und VII, und zwar mittels lebender Bakterien erhaltenen Sera nicht nur Gärtnerkulturen, sondern auch die ganze Paratyphusgruppe, A und B, agglutinierten. Hielt sich die Einwirkung auf Paratyphusbakterien bei dem H. V-Serum innerhalb solcher Grenzen, die man noch als höhere Mitagglutination deuten konnte, so war bei dem H. VII-Serum ein Unterschied in der Agglutinationsstärke zwischen Paratyphus A, B und gewissen Gärtnerstämmen kaum zu bemerken. Das Serum stellte also gewissermaßen ein Universalserum für Enteritisbakterien dar. Das war um so auffallender, als die beiden Stämme H. V und VII ihrerseits auf Paratyphus A und B-Serum fast gar nicht reagierten.

III. An einer Reihe von Paratyphusstämmen ließ sich ein eigenartiger Umwandlungsprozeß beobachten. Die Kulturen, zu denen unser Mäusetyphus, Bac. Schottmüller, Bac. Straßburg u.a. gehören, zeigten anfänglich typische Paratyphusagglutination, wurden allmählich für Paratyphusserum schlechter agglutinabel, reagierten statt dessen aber, in zunehmendem Maße, auf Gärtnerserum. In einem Falle (Mäusetyphus) verschwand die Paratyphusagglutination schließlich fast ganz, und nur Gärtnersera wirkten agglutinierend. Trotzdem lag weder hier noch bei den übrigen Stämmen etwa eine Verunreinigung mit Gärtnerbazillen vor. Die Erklärung gab uns das Verhalten unseres Stammes Aertryck, der von Anfang an auf die meisten Gärtnersera, dagegen nur auf einige wenige Paratyphussera, noch dazu unvollkommen, reagiert hatte, so daß wir ihn zunächst als Vertreter des Gärtnertypus anzusprechen geneigt waren. Trotzdem lieferte der Stamm ein reines Paratyphusserum. Genau ebenso verhielten sich die erwähnten Paratyphen, auch der Mäusetyphus, d. h. trotz der Agglutinierbarkeit für Gärtnerserum blieb der Paratyphuscharakter in dem agglutinogenen Vermögen der Stämme rein erhalten. Die Umwandlung unserer Kulturen ist also dadurch gekennzeichnet, daß die Agglutinationsprüfung eine deutlich fortschreitende Annäherung der Paratyphusbakterien an den Gärtner-



typus ergibt, ohne daß dabei — bisher wenigstens — die agglutinogenen Eigenschaften in Mitleidenschaft gezogen werden. Bemerkenswert ist nur, daß die Serumerzeugung mit derartigen Kulturen überhaupt etwas erschwert ist, und daß die erhaltenen Sera zwar Paratyphussera darstellen, dennoch aber die sog. „Doppelstämme" in erster Linie beeinflussen. Daß es sich bei diesen Vorgängen um tiefgreifende biologische Veränderungen handelt, geht unter anderem auch daraus hervor, daß die Doppelstämme in kultureller Hinsicht gleichfalls Besonderheiten aufweisen, und daß die Ergebnisse der Agglutinationsprüfung in neueren Versuchen durch die Komplementbindungsreaktion bestätigt werden konnten. —

Unsere Feststellungen geben zu verschiedenartigen Erwägungen Anlaß. Ich möchte nur einige Gesichtspunkte, die uns wesentlich erscheinen, kurz andeuten, ohne einstweilen eine bestimmte Entscheidung zu treffen.

Mehrere Beobachtungen, vor allem diejenigen an der Paratyphusgruppe lassen, im Gegensatz zu der meist nachweisbaren Uebereinstimmung, eine offenbare Diskrepanz zwischen agglutinin*bindender* und agglutinin*bildender* Fähigkeit zutage treten (vgl. auch ältere Beobachtungen von *Friedberger*,[1]) *Besserer* und *Jaffé*,[2]) *Haendel*[3])).

Wie ist ferner die Agglutination als artspezifisches Merkmal in der Enteritisgruppe zu bewerten? Halten wir an der durch tausendfache Erfahrung bestätigten Spezifität fest, so haben wir, zum mindesten bei den Stämmen *Rumfleth* und *Haustedt*, die Umwandlung eines Bakterientypus in den anderen festgestellt. Das würde den bisher gültigen Anschauungen von der Konstanz der Arten widersprechen und ein bakteriologisches Novum bedeuten. Wollte man andererseits daran denken, die Agglutination in der Enteritisgruppe zur Differenzierung kulturell gleichartiger bzw. sehr nahestehender Bakterienarten fallen zu lassen, so würden sich daraus für die Praxis und für unsere biologischen Anschauungen ganz unabsehbare Folgerungen ergeben. In jedem Fall also verwickeln wir uns in schwer zu lösende Widersprüche. Nur das eine steht schon jetzt fest, daß bei den von uns genauer untersuchten Bakterienarten unter gewissen Bedingungen Wandlungen wichtiger biologischer Eigenschaften, insbesondere des agglutinatorischen Verhaltens, vorkommen. Die Beobachtungen von *Kuhn* und *Woithe*[4]) über Veränderungen von Colibakterien und Staphylokokken im Körper von Ruhrkranken bieten hierzu ein interessantes Analogon.

---

[1]) Festschr. f. *Salkowski*.
[2]) Deutsche med. Wochenschr., 1905.
[3]) Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 30, 1909.
[4]) Med. Klinik, 1910.

XV. Sobernheim (Berlin):

Ueber Fleischvergiftung.

Die Beobachtungen, über die hier kurz berichtet werden soll, liefern einen Beitrag zu der Frage nach der Verbreitung und Bedeutung der Fleischvergiftungsbakterien. Wir haben im Laufe der beiden letzten Jahre im städtischen Untersuchungsamt systematische Erhebungen darüber angestellt, inwieweit sich bei gesunden Schlachttieren und in Fleischwaren Bakterien der genannten Art, also Paratyphus- und Gärtnerbazillen, nachweisen lassen. Unsere Untersuchungen beschäftigen sich mit einem Gegenstand, der gerade in letzter Zeit schon häufig und gründlich bearbeitet worden ist, dürften aber doch ein gegewisses Interesse insofern beanspruchen, als sie sich einmal auf ein recht großes und verschiedenartiges Material erstrecken, dann aber auch zu Ergebnissen geführt haben, die von den Befunden einiger anderer Untersucher abweichen. Die Resultate sind in gemeinsamer Arbeit mit den Kollegen Ditthorn, Seligmann und Neumark gewonnen worden.

I. An **Schlachttieren** gelangten zur Untersuchung: 48 Rinder, 34 Kälber, 36 Hammel, 51 Schweine und 50 Pferde, insgesamt 219 Tiere. Für die Entnahme und Uebermittlung der Proben sind wir Herrn Obertierarzt Bongert zu Dank verpflichtet, der auch in jedem einzelnen Falle die Gesundheit der Tiere bestätigte. Das Material wurde in sterilisierten Gefäßen sofort nach der Schlachtung in das Untersuchungsamt gebracht und hier in der Regel frisch verarbeitet, nur ausnahmsweise einige Zeit im Eisschrank aufbewahrt. Die Untersuchung erstreckte sich bei sämtlichen Tieren auf Darminhalt (Dickdarm, Dünndarm, auch Blinddarm), sowie auf Fleisch und verschiedene Organe. Als Nährböden wurden Lackmus-Nutroseagar (Drigalski-Conradi) und Malachitgrün verwendet, für Fleisch und Organe außerdem ein Anreichungsverfahren (Galle, Papain, Bouillon) herangezogen. Die Zahl der untersuchten Proben ergibt sich aus folgender Zusammenstellung.

Rinder (Fleisch, Leber, Niere)	144	Fleisch	u.	Organe,	144	Darminhalt.
Kälber (Fleisch, Milz)	68	"	"	"	68	"
Hammel (Fleisch, Leber, Milz)	108	"	"	"	72	"
Schweine (Fleisch, Leber, Milz)	153	"	"	"	102	"
Pferde (Fleich, Leber)	100	"	"	"	100	"
	573	Fleisch	u.	Organe,	486	Darminhalt

Im ganzen wurden also 1059 Proben untersucht. Zählen wir hierzu ferner noch 50 Gänsedärme, die an verschiedenen Stellen (Magerviehhof Friedrichsfelde, Markthallen usw.) entnommen und im Hinblick auf die später zu erwähnenden Befunde bei Spickgänsen gleichfalls auf das Vorkommen von Enteritisbakterien untersucht wurden, so erhöht sich die Zahl der Proben auf **1109.**



In einer größeren Reihe von Fällen gelangten Kolonien zur Entwicklung, die namentlich auf der Drigalski-Platte nach Form und Färbung dem Enteritistypus anzugehören schienen, von uns zunächst als „Blaustämme“ registriert und alsdann einer genaueren Prüfung unterworfen wurden. Hierbei bestanden nur 3 Stämme schließlich alle Proben. Viele Arten schieden dagegen wieder aus, weil sie doch mehr oder minder erhebliche kulturelle Abweichungen von der Enteritisgruppe aufwiesen, andere aber verhielten sich auch auf den Differentialnährböden teils genau wie Enteritisbakterien, teils ganz ähnlich, nur versagten sie bei der Agglutinationsprüfung. Die letztere wurde mit Gärtnerserum und Paratyphusserum (A und B) vorgenommen und, unter Benutzung verschiedener Sera jeder Kategorie, meist nach einigen Wochen und Monaten wiederholt. Der Ausfall blieb negativ (vgl. Uhlenhuth,[1]) Andrejew,[2]) Titze und Weichel[3]) u. a.).

Die Ergebnisse sind die folgenden:

	Paratyphus	Gärtner	Blaustämme
Rinder (48)	0	0	6 {4 aus Darm, 2 aus Organen}
Kälber (34)	0	0	2 (aus Darm)
Hammel (36)	0	0	10 {8 aus Darm, 2 aus Organen}
Schweine (51)	1 (B, aus Leber)	2 (Leb. u. Milz)	16 {3 aus Darm, 13 aus Organen}
Pferde (50)	0	0	5 {1 aus Darm, 4 aus Organen}
Gänsedärme (50)	0	0	9
	1	2	48

Somit zeigt sich, daß trotz der großen Zahl der untersuchten Proben nur 3mal Enteritisbakterien, und zwar 1 Paratyphus B und 2 Gärtner, nachgewiesen werden konnten. Diese 3 positiven Befunde betreffen Schweine, während alle übrigen Tierarten zwar Blaustämme, niemals aber echte Enteritisbakterien auffinden ließen. Nach den Untersuchungen Uhlenhuths[4]) kommen Bakterien der letzteren Art bei gesunden Schweinen in 8,4 Proz. der Fälle vor, was mit dem von uns festgestellten Verhältnis von 6 Proz. ziemlich gut übereinstimmt. Ein Unterschied besteht lediglich insofern, als wir die Bakterien nicht, wie Uhlenhuth, aus dem Darm, sondern aus inneren Organen isoliert haben. Bemerkt sei ferner, daß wir bei Schweinen auch die größte Zahl von Blaustämmen (32 Proz.) gefunden haben.

II. An **Fleischwaren** zogen wir Schlackwürste, Leberwürste, Schinken und Spickgänse in den Kreis unserer Untersuchungen. Das Material

---

[1]) Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 30.
[2]) Ebendaselbst. Bd. 33.
[3]) Ebendaselbst. Bd. 33.
[4]) Ebendaselbst. Bd. 27.



wurde aus den verschiedensten Geschäften besorgt, wobei namentlich verdächtige Quellen bevorzugt wurden. Der Gang der Untersuchung war der gleiche, wie der oben erwähnte, nur daß außerdem noch vielfach der Tierversuch, in der Form von Mäuseimpfungen und Mäusefütterungen, Berücksichtigung fand.

Es hat sich hierbei folgendes Resultat ergeben:

Material	Zahl d. Proben	Paratyphus	Gärtnerbaz.	Blaustämme
Schlackwürste	25	0	1	5
Leberwürste	84	0	0	6
Schinken	25	0	0	9
Spickgänse	40	4	0	11
	174	4	1	31

Der Gehalt der hier in Frage kommenden Fleischwaren an Enteritisbakterien ist somit ein verschwindend geringer. In dieser Hinsicht befinden wir uns in Uebereinstimmung mit den neuerdings veröffentlichten Befunden von Zwick und Weichel.[1]) Nur in 1 Schlackwurstprobe (4 Proz.) wurden Gärtnerbazillen nachgewiesen (vgl. Hübener[2])); in Leberwürsten und Schinken wurden Enteritisbakterien überhaupt nicht entdeckt; bei den Spickgänsen aber, von denen 4 (10 Proz.) Paratyphusbazillen enthielten, liegen besondere Verhältnisse vor, die hier nur kurz angedeutet werden können und eine Verallgemeinerung dieser Befunde nicht gestatten. Es handelte sich nämlich um Untersuchungen, die im Frühherbst vorgenommen wurden, zu einer Jahreszeit, in der Spickgänse fast ausschließlich vom Auslande (Rußland u. a.) importiert werden und erfahrungsgemäß besonders häufig zu Vergiftungserscheinungen führen.

Unsere Beobachtungen gestatten uns, zu einer Reihe von Fragen Stellung zu nehmen, die gerade für ein Untersuchungsamt von großer praktischer Bedeutung sind.

Bezüglich der Methodik haben auch wir die Ueberzeugung gewonnen, daß das Kulturverfahren, insbesondere in Verbindung mit einer Anreicherungsmethode allen Anforderungen genügt. Die Anreicherung in Bouillon leistet anscheinend das Gleiche wie Papain- und Gallenmethode. Der Tierversuch an weißen Mäusen birgt, aus den bekannten Gründen, große Fehlerquellen in sich. Wir mußten schließlich wegen einer Gärtnerepidemie unter unserem Mäusebestand diese Versuche gänzlich aufgeben. Dennoch haben wir in einer früheren Zeit, als Spontaninfektionen der Versuchstiere niemals beobachtet wurden, die Mäuseimpfung und -fütterung gelegentlich auch mit Erfolg heranziehen können.

Was sodann die Verbreitung der Enteritisbakterien anlangt, so hat sich herausgestellt, daß bei gesunden Schlachttieren und in Fleischwaren diese Mikroorganismen nur äußerst selten anzutreffen

[1]) Ebendaselbst. Bd. 33.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1908.



sind. Damit steht die weitere Tatsache im Einklang, daß es uns auch sonst nicht gelungen ist, die Bakterien der Paratyphus- und Gärtnergruppe so häufig und in einer fast ubiquitären Existenz aufzufinden, wie dies in anderen Gegenden der Fall zu sein scheint. So sind bisher zahlreiche Eis- und Wasseruntersuchungen völlig negativ verlaufen, in Obst, Salat, Gurken usw. (120 Proben) wurden niemals Enteritisbakterien nachgewiesen, und bei weit mehr als 1000 Stuhl- und Urinuntersuchungen, die bei verdächtigen Darmerkrankungen oder bei Gesunden vorgenommen wurden, haben sich nur ein einziges Mal Paratyphusbazillen herauszüchten lassen. Wohl aber haben wir wiederholt in Fällen von Fleisch- bzw. Nahrungsmittelvergiftung, die zu Gruppen- und Massenerkrankungen führten, Enteritisbakterien als Krankheitsursache festgestellt. Hiernach will es scheinen, als ob die Verbreitung dieser Bakterien, speziell der Paratyphusbazillen, in hiesiger Gegend eine andersartige ist und einen ganz anderen Charakter aufweist, als beispielsweise im Westen des Reiches, im Gebiete der Typhusbekämpfung. Während dort nach vielfachen Beobachtungen (Rimpau,[1]) Conradi[2]) u. a.) Paratyphusbazillen bekanntlich recht häufig angetroffen werden, auch unter unerwarteten und gewissermaßen harmlosen Bedingungen, so daß sie nahezu die Eigenschaften unschuldiger Saprophyten besitzen, treten sie hier entschieden seltener und mehr in der Form eines virulenten Infektions- und Vergiftungserregers auf. Wir sind eben bei unseren Untersuchungen bisher kaum jemals auf einen Bazillenträger dieser Art gestoßen und sind überhaupt auch, wie berichtet, „unschädlichen“ Paratyphusbazillen nur ganz vereinzelt begegnet. Beachtung verdient in diesem Zusammenhang endlich die Tatsache, daß Paratyphusbazillen in unserer Gegend allem Anschein nach wesentlich als Erreger von schweren, akuten Nahrungsmittelvergiftungen, nicht von mehr chronischen typhösen Erkrankungen, also des eigentlichen Paratyphus, eine Rolle spielen.

Hinsichtlich der hygienischen Bedeutung des Befundes von Enteritisbakterien (Paratyphus- und Gärtnerbazillen) möchte ich daher den Standpunkt vertreten, daß wir hier prinzipiell den gleichen Maßstab anzulegen haben, wie an den Nachweis von anderen pathogenen Mikroorganismen, etwa von Typhusbazillen. Ein mit lebenden Paratyphus- oder Gärtnerbazillen behaftetes Nahrungsmittel, welcher Art es auch sei, ist unbedingt als gesundheitsgefährlich vom menschlichen Genuß auszuschließen.

Finden sich Enteritisbakterien in Fleisch und Fleischwaren, so handelt es sich entweder um ein von kranken Tieren stammendes Material oder, was wahrscheinlich häufiger der Fall, um eine nachträgliche Infektion durch Menschenhände bei der Verarbeitung. Gesunde Schlachttiere kommen als Infektionsquelle, wenn überhaupt, wohl nur ganz ausnahmsweise einmal in Betracht.

---

[1]) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 30.
[2]) Klin. Jahrbuch, Bd. 21.



XVI. Zwick und Weichel (Groß-Großlichterfelde):
Zur Frage des Keimgehaltes des Fleisches gesunder Schlachttiere.

Von Conradi wurde vor einiger Zeit berichtet, daß es ihm mittels einer besonders ausgebildeten Methode gelungen sei, in 72 von 162 untersuchten Organteilen (Leber, Muskulatur, Niere, Lunge, Lymphdrüse, Milz, Hoden) normaler, gut genährter, frisch geschlachteter Tiere Bakterien zu finden. Dieser überraschende Befund forderte mit Rücksicht auf seine Bedeutung für die Fleischbeschau zu einer Nachprüfung auf, zu der sowohl die Conradische als auch vier andere Methoden herangezogen wurden. Insgesamt wurden nach 5 Methoden 63 Muskelproben untersucht; nur in einer von ihnen (Nackenmuskulatur) konnten Colibakterien in geringer Zahl nachgewiesen werden. In diesem Falle dürfte es sich wohl um eine nachträgliche Infektion des Fleisches gehandelt haben. Die untersuchten Milz- und Nierenproben erwiesen sich als steril, während von 8 untersuchten Lebern nur 2 steril waren. Die verschiedenen angewandten Untersuchungsmethoden lieferten gleichartige Ergebnisse.

Die Conradische Methode besitzt zwar unverkennbare Vorzüge, ist aber zu kompliziert, um in der Praxis Anwendung finden zu können. Zwick und Weichel empfehlen ein einfacheres Verfahren, das darin besteht, daß 80—100 g schwere, quadratische Fleischstücke mit Messern, die in kochendem Wasser sterilisiert wurden, in glattem Schnitt entnommen, je nach ihrer Größe und Konsistenz 2—5 Minuten lang in Wasser gekocht, während 5 Minuten in $^1/_2$ proz. Sublimatlösung verbracht und alsdann zum Versand in Tüchern verpackt werden, die mit dieser Lösung befeuchtet wurden.

Mit Rücksicht auf ihre von den Conradischen abweichenden Untersuchungsergebnisse halten es Zwick und Weichel für geboten, eingehende Untersuchungen im großem Maßstab zur Klärung der schwebenden Frage anzustellen.

Diskussion:

Seligmann (Berlin): Ich möchte die Ausführungen des Herrn Sobernheim über unsere Untersuchungen in einigen Punkten ergänzen. Um den letzten Verdacht der Möglichkeit von Mischkulturen bei unseren Versuchen auszuschließen, haben wir auch das Einzellkulturverfahren nach Burri angewandt und auch mit den so gewonnenen Reinkulturen unsere Erfahrungen, speziell bezüglich der Doppelstämme, bestätigt gefunden. Diese Erfahrungen führen nun strikte zu folgender Konsequenz: entweder wir lassen die Spezifität der Agglutination in der Enteritisgruppe fallen oder aber wir geben das Dogma von der Konstanz der Arten auf und sehen in den Vertretern dieser Gruppe eine noch nicht stabilisierte Art vor uns, deren biologische, differenzierende Charakteristika noch im Flusse befindlich sind. Beide Konsequenzen sind naturwissenschaftlich schwerwiegend, wir haben daher noch eine weitere biologische Methode zur Klärung herangezogen, die Komplementbindung. Zur Differenzierung von Bakterieneiweiß scheint diese Methode ja weniger geeignet als zur Artbestimmung von tierischem Eiweiß — ich erinnere nur an die widersprechenden Resultate in der Differenzierung der Cholera-Vibrionengruppe —, auch zur quantitativen Auswertung von Seris scheint sie wenig geeignet; wohl aber kann man bei geeigneter Versuchsanordnung qualitative Resultate erhalten, so auch in der Entero-Paratyphus-

gruppe. Wir fanden, ähnlich wie bei der Agglutination, eine gewisse Spezifität, insofern, als es im allgemeinen gelingt, Gärtnerbazillen und Paratyphus B zu trennen: ein Gärtnerschüttelextrakt reagiert nur mit Gärtnerserum, nie mit Paratyphusserum und umgekehrt. Ja, es ließ sich in der Gärtnergruppe noch eine weitere Differenzierung vornehmen, so zwar, daß die Rattengruppe, zu der die Rattenschädlinge und einige Enteritiserreger (*Morseele* u. a.) gehören, sich streng von den anderen Vertretern des Gärtnertypus trennen lassen.

Am wichtigsten war uns jedoch das Verhalten der schon früher charakterisierten „Doppelstämme", die im Reagenzglase Gärtneragglutinin binden, im Tierkörper Paratyphusagglutinin erzeugen. Nun, die Komplementbindungsmethode hat diese Resultate in ihren wesentlichen Punkten bestätigt: die Stämme Aertryk, Mäusetyphus usw. binden mit ihrem eigenen und mit Gärtnerserum Komplement, nicht dagegen, oder, in einigen Fällen nur schwach, mit Paratyphusserum. Ihre Sera aber binden in keinem Falle mit Gärtnerkulturen, gewöhnlich auch nicht mit Paratyphuskulturen Komplement, sondern im allgemeinen nur mit dem homologen Stamm. Somit bestätigt auch die Komplementbindungsreaktion, daß diese Stämme den Paratyphuscharakter weitgehend abgestreift und dafür Gärtnereigenschaften angenommen haben.

Selter (Bonn): Die Agglutinationsverhältnisse der Paratyphus- und Enteritisbakterien habe ich mit Dannenberg zusammen[1]) an der Hand von 7 Sera untersucht (2 Paratyphus B-Sera, 1 Paratyphus A-Serum, 2 Suipestifersera, 1 Enteritis-Gärtner-Serum und ein Mäusetyphusserum). Wir fanden hierbei folgendes: Verwendet man ein reines Paratyphus B-Serum, so bekommt man eine Agglutination bis ungefähr zur Titergrenze nur bei den Paratyphus B-Stämmen. Durch ein Suipestiferserum wurden außer den Schweinepestbazillen die Paratyphus B-Stämme, ein Kälberruhrstamm und die Papageibazillen agglutiniert. Dasselbe Resultat erhielten wir mit dem 2. Paratyphus B-Serum, welches uns aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt zur Verfügung gestellt war. Wie mir jetzt mitgeteilt wurde, ist dieses Serum aus Schweinepestbazillen gewonnen, es stellt also kein eigentliches Paratyphus B-Serum dar. Man darf nun hieraus nicht schließen, daß die Paratyphus B-Bazillen und die Schweinepestbazillen identisch seien, wir können vielmehr nur annehmen, daß die Schweinepestbazillen Agglutinine bilden, die eine Verwandtschaft zu den agglutinogenen Gruppen der Paratyphus B-Bazillen haben, während dagegen die Agglutinine dieser für die Schweinepestbazillen unwirksam sind. Das Enteritis-Gärtner-Serum und das Mäusetyphusserum agglutinierte übereinstimmend die Enteritisstämme (5), 2 Mäusetyphusstämme und einen anderen Kälberruhrstamm. Das Paratyphus A-Serum agglutinierte nur den homologen Stamm, zwei andere nicht, wie auch keine anderen Stämme. Wir können mit Hilfe der Agglutination also 4 Gruppen voneinander trennen: 1. die Paratyphus B-Stämme, 2. die Paratyphus A-Stämme, 3. die Enteritis-Gärtner-Stämme, zu welchen nach unseren Untersuchungen auch die Mäusetyphusbazillen sowie ein Stamm von Kälberruhrbazillen zu rechnen wären, und 4. die Schweinepestbazillen, zu welchen vielleicht die Papageibazillen, ein anderer Kälberruhrstamm und andere mehr gehören. Die Paratyphus B-Bazillen zeigen zu dieser Gruppe eine gewisse Verwandtschaft. Welcher Art diese Beziehungen sind, kann erst durch weitere Untersuchungen der Agglutinationsverhältnisse entschieden werden, wobei aber darauf zu achten ist, daß man nur reine monovalente Sera verwendet.

Die Conradische Arbeit über das Vorkommen von Paratyphus B-Bazillen im Fleisch habe ich durch Bongartz[2]) nachprüfen lassen. Derselbe untersuchte 153 normale Fleisch- und Wurstproben verschiedener Herkunft und 15mal das Fleisch notgeschlachteter Tiere. Er fand in keinem Fall Paratyphus B-Bazillen, dagegen in 27 Proben Bakterien, die vielleicht der Paratyphus A-Gruppe zuzurechnen sind, da sie auch im Enteritis-Gärtner-Serum nicht agglutiniert wurden. Die Conradische Forderung einer bakteriologischen Fleischbeschau erscheint zu weitgehend und ist auch nur in Schlachthäusern mit guten Kühlanlagen möglich, da die bakteriologische Untersuchung mindestens 3 Tage in Anspruch nehmen würde.

Fischer (Kiel) hat keinen Grund, die Richtigkeit der Sobernheimschen Beobachtungen betr. die Aenderungen des Agglutinationsvermögens der Stämme Rumfleth

[1]) Die Arbeit wird in kurzem veröffentlicht werden.

[2]) Bongartz, Kommen normalerweise im Fleisch unserer Schlachttiere paratyphusähnliche Bakterien vor und bedingt der Nachweis derselben die Einführung der bakteriologischen Fleischbeschau. Dissertation. Bonn 1910.



und Haustedt zu bezweifeln, möchte aber betonen, daß dieselben schon vor 18 bzw. 15 Jahren von ihm isoliert worden sind und daß sie während eines mehr als 5jährigen Zeitraumes bei der von ihm wiederholt vorgenommenen Agglutinationsprüfung stets unter sich sowie mit dem von Gärtner vor 22 Jahren aus der Frankenhäuser Epidemie isolierten Stamm völlig übereinstimmten. Bemerkt wird noch, daß die 3 Stämme damals regelmäßig zur Prüfung auf ihre Reinheit von Zeit zu Zeit durch die Gelatineplatte geschickt worden sind.

Die von Fischer in den letzten 7 Jahren bei mindestens 5 Fleischvergiftungen als Erreger aufgefundenen und in einer größeren Zahl von Einzelstämmen isolierten und geprüften Bakterien (Fleischvergifter vom Typus Breslau) hat er bisher regelmäßig durch ihr kulturelles Verhalten von den bei Paratyphuskranken isolierten Erregern (*Bacterium paratyphi B*) unterscheiden können. Mehr als 200 derartige bei Paratyphuskranken isolierte und geprüfte Stämme bildeten frisch isoliert auf Drigalski- und Malachitgrünagarplatten, wenn letztere nach 24stündiger Bebrütung noch 1—2 Tage bei Zimmertemperatur belassen wurden, regelmäßig nestartige Kolonien, d. h. die Kolonie erwies sich von einem dicken schleimigen Wall umgeben. In gleicher Weise bildete sich bei Gelatinestrichkulturen regelmäßig eine dicke schleimige Auflagerung, und rutschten die Kulturmassen allmählich herab, so daß sich schon nach wenigen Tagen die schleimigen Massen am Grunde des Reagenzgläschens zeigten. Dagegen traten bei keinem der aus Fleischvergiftungen (vom Typus Breslau) isolierten Stämme Schleimwälle um die Kolonien auf, auch war die Auflagerung bei den Gelatinstrichkulturen stets weniger üppig und kam es nie zu einem Herabrutschen der Kulturmassen im Röhrchen. Während die Unterscheidung von *Bacterium paratyphi B* und *Bacterium enteritidis typus Breslau* mittels der Agglutination auf Schwierigkeiten stieß, insofern beispielsweise ein mit *Bacterium paratyphi B* von Ziegen gewonnenes Serum die Paratyphusbakterien noch bis 1:20000, die Fleischvergifter bis 1:5000, zuweilen 1:10000 agglutinierte, gelang die Unterscheidung durch das kulturelle Verhalten bisher jedesmal ohne weiteres.

Ph. Kuhn (Groß-Lichterfelde): Meine Herren! Herr Sobernheim hat die Befunde hervorgehoben, die Herr Woithe und ich bei Ruhrkranken gefunden haben. Wir fanden im vorigen Jahr im Darm eines Ruhrkranken Colistämme und einen Kokkenstamm, die von spezifischem Ruhrserum stark agglutiniert wurden; erstere bis fast zur Titergrenze (10000), letzterer bis etwa 3000. Wir haben nun inzwischen gemeinsam mit Oberarzt Gildemeister aus derselben Irrenanstalt noch eine Anzahl Colistämme (11 von 8 Insassen) isoliert, die sich in gleicher Weise verhalten. Zu bemerken ist, daß die Agglutinationsfähigkeit mit der Zeit, d. h. nicht nach Tagen, sondern in Monaten, abnimmt, während die aus der Anstalt isolierten Flexnerbazillen ihre Agglutinationsfähigkeit beibehielten. Das scheint für die Annahme zu sprechen, die wir gemacht haben, daß es sich bei unseren Stämmen um eine erworbene Eigenschaft handelt.

Rimpau (Groß-Lichterfelde): Im Anschluß an die Ausführungen von Herrn Kuhn möchte ich hier auf Befunde von Colistämmen hinweisen, die mit Flexnerserum sehr hoch, teilweise bis zur Titergrenze agglutinierten, und die ich im Kaiserl. Gesundheitsamt aus Säuglingsstühlen züchtete. Klinische Ruhrerscheinungen lagen nicht vor, ein Teil der Säuglinge hatte Darmstörungen, die von den Spezialisten als alimentäre Intoxikation im Sinne Finckelsteins aufgefaßt wurden. Von einigen 60 untersuchten Kindern zeigten 5 derartige Colistämme im Stuhl.

Wenn wir bei den oben erwähnten Colistämmen bei der Agglutination einen den Ruhrbazillen ähnlichen Rezeptorenapparat beobachten, so gibt es andererseits Colistämme, die in der Agglutination ein derartiges Verhalten der Paratyphusgruppe gegenüber zeigen.

Ich habe kürzlich ein *Bact. coli* gefunden, das mit einem Serum fast bis zur Titergrenze agglutiniert, das hergestellt ist mit einem zur Paratyphusgruppe gehörigen Bazillus. Dieser Paratyphus B ähnliche Bazillus läßt sich kulturell nicht vom echten Paratyphus B unterscheiden. Er wird vom Paratyphus B-Serum nicht agglutiniert, das mit ihm hergestellte Serum agglutiniert aber echte Paratyphus-Stämme. Dieser Paratyphus B ähnliche Stamm ist von Herrn Dr. Schern aus Hackfleisch gezüchtet worden.

Die von Herrn Selter ergangene Forderung nach einem Normalparatyphusstamm wird sich schwer erfüllen lassen, denn in agglutinatorischer Hinsicht zeigen die Paratyphusstämme eine große Verschiedenheit, ähnlich wie das *Bact. coli*.

Wie auch aus den interessanten Ausführungen von Herrn Sobernheim und



Selter hervorgeht, sind Schwankungen im Verhalten bei der Agglutination bei der Paratyphusgruppe durchaus nicht selten.

Für die Praxis ist die Entscheidung darüber wichtig, ob Stämme, die kulturell zu der Paratyphusgruppe gehören, von hochwertigem Paratyphus B-Serum aber nicht oder nur schwach agglutiniert werden, als echte Paratyphus B-Stämme anzusehen sind.

Hier gilt es vor allem erst Material zu sammeln.

Zwei Beobachtungen, die ich in den letzten Jahren in Hagenau machte, gehören hierher.

1. Im Urin eines bakteriologisch bestätigten Typhuskranken werden während der Rekonvaleszenz Paratyphus B-Bazillen gefunden, die aber nur bis zur Hälfte des Titers von einem hochwertigen Paratyphus B-Serum agglutiniert werden. Die Agglutinierbarkeit bleibt längere Zeit bestehen, dann verschwindet sie. Der Stamm ist inagglutinabel geworden.

2. Bei einem Paratyphus B-Kranken werden im Stuhl Paratyphus B ähnliche Bazillen gefunden, die nicht agglutinieren. Nachdem diese Kolonie über die Drigalski-Conradiplatten geschickt ist, zeigt sie, daß sie zusammengesetzt war aus Bazillen, die mit hochwertigem Paratyphus B-Serum bis zur Titergrenze agglutinierten und solchen, die nicht agglutinierten. Beide Arten erwiesen sich kulturell als Paratyphusbazillen.

Auch darauf wollte ich noch kurz hinweisen, daß es mir mehrfach aufgefallen ist, daß besonders häufig bei Paratyphuskranken in der Rekonvaleszenz und bei Gesunden in der Umgebung von Paratyphuskranken sich im Stuhl Bazillen nachweisen lassen, die kulturell Paratyphusbazillen sind, von einem hochwertigen Paratyphusserum nicht oder nur schwach agglutiniert werden.

Lentz (Berlin): Auch auf meiner Abteilung im Institut für Infektionskrankheiten in Berlin habe ich durch Herrn Amako eine Nachprüfung der Conradischen Untersuchungen ausführen lassen, deren Ergebnis mich veranlaßt, an der Häufigkeit der sogenannten latenten Infektion, wie sie sich nach den Versuchen Conradis darstellt, zu zweifeln. Herr Amako hat auf zwei Fehlerquellen aufmerksam gemacht, die einen Bakteriengehalt an sich steriler Organe vortäuschen können. Wie die Herren Zwick und Weigelt schon hervorhoben, fließt von dem enthäuteten und an den Hinterbeinen aufgehängten Kadaver alle Flüssigkeit, auch ohne daß die Kadaver gewaschen werden, herab, und mit ihnen natürlich auch Bakterien, die etwa auf den Kadaver fallen, so daß beim Herausschneiden von Muskeln aus der tief hängenden Halspartie sehr leicht Bakterien mechanisch in die Muskeln hineingetrieben werden. Zweitens sind aber die Organe weich und elastisch, so daß durch den Druck, der schon bei der Herausnahme auf das Organ ausgeübt wird, aus den Ausführungsgängen und Gefäßen Flüssigkeit ausgepreßt wird, die, sobald der Druck nachläßt, mehr oder weniger mit Luft, Staub und Schmutz, also Bakterien enthaltenden Medien, gemischt wieder eingesogen wird. Auf diese Weise können Bakterien leicht bis tief in das Innere der Organe geraten. Proportional der Größe der Ausführungswege bzw. Gefäße hat denn auch Herr Amako bei 22 Rindern in der Leber in 100 Proz., in den Nieren in 59 Proz., der Milz in ca. 32 Proz. und den Muskeln in ca. 27 Proz. der Fälle Bakterien nachgewiesen. Zieht man jene von Amako gekennzeichneten Fehlerquellen in Betracht, so wird man kaum, wie dies jüngst noch Bierotte und Machida tun, einen Befund von vereinzelten Saprophyten wie Mycoides und Subtilis als eine Infektion des betreffenden Organs deuten. So hat auch Herr Amako in den von ihm untersuchten Organen zahlreiche Saprophyten gefunden, die wir ohne weiteres auf Verunreinigungen, die nach dem Tode des Tieres eingetreten sind, zurückführen müssen. Nur in vereinzelten Fällen fand er *Bact. coli*, Staphylokokken und Streptokokken. Wieweit es sich bei diesen Befunden um Verunreinigungen, wieweit um Keime handelt, die schon während des Lebens des Tieres in das Organ geraten waren, lasse ich dahingestellt. Die Verhältnisse eines großen Schlachthofes sind zu wenig geeignet, ein steriles Arbeiten zu gewährleisten, als daß man diese Frage auch nur mit annähernder Sicherheit entscheiden könnte. Um aber unter sterilen Kautelen womöglich eine Klärung dieser wichtigen Frage zu ermöglichen, hat Amako die Versuche an einem Hund und ca. 50 großen Kaninchen und Meerschweinchen im Laboratorium wiederholt, und zwar zum Teil mit Anwendung des Oelbades, teils lediglich unter Beobachtung steriler Kautelen. Abgesehen von einigen Befunden von Saprophyten, wie *Micrococcus albus*, *Sarcina lutea* und einigen anderen, die ohne weiteres als Luftverunreinigungen erkannt werden konnten, hat Amako bei diesen Versuchen keinen einzigen Befund erhoben, der auf eine latente Infektion hätte gedeutet werden können.



v. Drigalski (Halle): Die Frage der Stellung von Paratyphus- und Fleischvergiftungsbakterien schien eine Reihe von Jahren sich zu der Entscheidung zuzuneigen, als handle es sich um identische Stämme. Diesen Standpunkt habe ich nie vertreten können und sehe jetzt, daß man doch wieder beginnt, sie für verschieden zu halten, wie ich es vor 7 Jahren (Festschr. f. R. Koch) getan habe. Die Differenzen lassen sich meines Erachtens, wie Herr Geheimrat Fischer hervorhebt, tatsächlich bei frischen Stämmen kulturell erweisen (Gelatine, Lackmusmilchzuckerplatte, Lackmusmolke). — Die Anreicherung ist nicht prinzipiell von Conradi, sondern in Fleisch bereits von Ermengen angegeben, zweckbewußt mit Rinderbouillon zuerst von mir erfolgreich vorgenommen worden. Die Säuglingskatarrhe sind mehr als bisher bakteriologisch auf ähnliche Erreger zu untersuchen; die epidemiologische Erfahrung (Spitalepidemien) verlangt das trotz früherer negativer Ergebnisse.

Conradi (Neunkirchen): Herr Weichel kommt zu dem Ergebnis, daß meine Methode der bakteriologischen Fleischbeschau einwandfrei arbeitet. Auch das Vorkommen von Keimen in Drüsenorganen wird von Herrn Weichel bestätigt. Jedoch in der Muskulatur der Schlachttiere fand er nur einmal Keime, während ich in ca. $^1/_3$ der untersuchten Muskelproben Bakterien nachwies. Meine Beobachtungen, wonach alle Organe der Schlachttiere, auch die Muskeln, Keime enthalten können, sind noch kürzlich von Bierotte aus dem Hallenser Institut bestätigt worden. Um so auffallender sind die negativen Muskeluntersuchungen von Weichel und vor allem die negativen Ergebnisse von Amako, über die eben Herr Lentz berichtet. Man muß die ausführliche Publikation der beiden Herren abwarten, ehe eine Erklärung ihrer widerspruchsvollen Resultate möglich ist. Schon jetzt aber möchte ich mich dagegen wenden, daß Herr Lentz bezweifelt, ob mein Verfahren eine Ermittlung der intravitalen Infektionen bei Schlachttieren zuläßt. Das Eintauchen der Organstücke in Oel von 200° C und eine stundenlange Durchtränkung der Randschicht mit 2proz. Sublimat soll nicht genügen, um eine Abtötung der auf die Oberfläche gelangten Luftkeime zu bewirken. Demgegenüber muß ich betonen, daß nach meinen Kontrollversuchen jede akzidentelle, nachträgliche Verunreinigung des Untersuchungsmaterials auszuschließen ist. Zum Beweise möchte ich nur folgenden Versuch anführen.

Brachte ich auf die Oberfläche von Muskelstücken oder von Leberstücken Sporenbildner, die mehrstündige Siedehitze vertrugen, so wurden diese Oberflächenkeime trotz ihrer ungewöhnlichen Resistenz durch die nachfolgende Hitzeeinwirkung und die Behandlung mit 2proz. Sublimat, wie sie mein Verfahren vorschreibt, regelmäßig abgetötet Es ist somit eine akzidentelle, oberflächliche Verunreinigung der Fleischproben bei richtiger Ausführung des Verfahrens sicher auszuschließen. Der Befund von Keimen im Innern des Muskels oder der Organe ist ein Beweis der latenten Infektion. Nun meinte Herr Lentz, bei Saprophyten sei eine latente Infektion nicht möglich. Demgegenüber brauche ich nur an die bald 25 Jahre zurückliegenden Befunde von Wyssokowitsch zu erinnern, der nach Einspritzung von harmlosen Sporenbildnern in die Blutbahn noch spärliche Sporen in Leber und Milz Monate nach erfolgter Infektion auffand und so den Ruhezustand dieser Sporen in den Organen feststellte. Endlich erklärt Herr Lentz die häufige Anwesenheit von Keimen in der Leber damit, daß gerade dieses Organ nachträglichen Verunreinigungen besonders leicht ausgesetzt sei. Ich kann nur nochmals hervorheben, eine solche Fehlerquelle ist bei meinem Verfahren nicht möglich.

Die Leber enthält wohl deshalb häufig Keime, weil gerade dieses Organ die im Blute kreisenden Bakterien abfängt. Und die Ablagerung von Keimen in der Leber ist eine physiologische Funktion. Im übrigen zweifle ich keinen Augenblick, daß die weiteren Nachprüfungen meine Untersuchungen über den Keimgehalt der Organe völlig bestätigen werden.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Die Befunde von Herrn Sobernheim über das Vorkommen von Paratyphus B-Bazillen bieten eine weitere Bestätigung der von mir und Hübener im Gesundheitsamt ausgeführten Versuche.

Wir haben allerdings damals gerade im gesunden Schweinedarm in 7—8 Proz. der Fälle Paratyphus B- resp. Schweinepestbazillen gefunden.

Daß sie im normalen Schwein noch viel häufiger vorkommen, aber ihr Nachweis nicht immer mit den üblichen Methoden gelingt, beweisen unsere Versuche mit dem filtrierbaren Virus der Schweinepest.

Die mit sterilem (d. h. bakterienfreiem) Filtrat eingespritzten Ferkel haben in ca. 50 Proz. der Fälle den *Bacillus suipestifer* in den Organen. Er reichert sich unter



der Einwirkung des Virus an. Er kann eigentlich nur aus dem Darm der Schweine stammen. Lokale Verschiedenheiten bezgl. der Häufigkeit des normalen Vorkommens bestehen zweifellos. Darauf weisen auch die Beobachtungen bei den Schweinepestuntersuchungen hin, wo er von manchen Autoren nur selten gefunden wurde; von Theiler in Afrika ist er überhaupt nicht nachgewiesen.

In normalen Fleischwaren ist er auch von uns zuerst in 6 Proz. der untersuchten Würste aufgefunden worden; auch diese Befunde finden durch die von Sobernheim eine wertvolle Bestätigung. Bezüglich der Umwandlungsversuche des Paratyphus B, die ja theoretisch sehr interessant sind, möchte ich empfehlen, für diese Versuche auch einmal ganz frisch aus dem Tierkörper gezüchtete Bakterien zu verwenden; die Kulturen Haustedt-Rumfleth sind viele Jahre alt und im Laboratorium fortgezüchtet worden. Das ist vielleicht nicht ganz gleichgültig. Man soll sich aber durch diese Befunde nicht beirren lassen in der Praxis. Die Agglutination hat sich da doch sehr gut bewährt, wenigstens kann ich das auf Grund meiner langjährigen Arbeiten mit den Bakterien der Paratyphusgruppe behaupten. Gewiß stoßen wir mal auf Bakterien, die schlecht oder auch vom Gärtner- und Paratyphus B-Serum nicht agglutiniert werden (siehe auch Andrejews Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XXXIII). Wir haben die Paratyphus C-Gruppe noch abgetrennt. — Die Behauptung von Herrn Selter kann ich keineswegs bestätigen. Ich habe stets darauf hingewiesen, daß man bei vergleichenden Untersuchungen in dieser Gruppe immer eine große Anzahl von Stämmen heranziehen muß, dann würde Selter auch gefunden haben, daß das im Gesundheitsamt hergestellte Paratyphusserum nicht nur den *Bac. suipestifer*, sondern auch Paratyphus B vom Menschen vorzüglich agglutiniert. Ich verweise ihn in dieser Beziehung auf meine letzte mit Hübener, Xylander und Bohtz ausgeführte Schweinepestarbeit (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXX. H. 2). Schern hat auf meine Veranlassung auch eingehende Versuche (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXIII. H. 2) angestellt, um Differenzen von menschen- und tierpathogenen Paratyphusbazillen zu finden, er hätte auch welche gefunden, wenn er sich auf einzelne Vertreter der Gruppe beschränkt hätte, sobald er aber 15—20 Stämme nahm, verschwanden die beobachteten Differenzen in der Gärungsfähigkeit. Ich kann auch nicht feststellen, daß Verschiedenheiten auf der schrägen Gelatine bestehen, das rasenartige Wachstum und Herunterfließen der Kultur ist nicht charakteristisch. Das kommt beim Gärtner und Paratyphus B vor. Ich habe darauf schon in meiner Arbeit in der Festschrift von Leuthold (Zur Kenntnis der gastrointestinalen Fleischvergiftungen usw. 1905) hingewiesen. Auch die „Wallbildung" ist nicht charakteristisch. Nimmt man zahlreiche Kulturen, so kann man sich leicht davon überzeugen.

Was die Beurteilung des paratyphusbazillenhaltigen Fleisches betrifft, so kann nicht geleugnet werden, daß ein solches Fleisch unter Umständen, die wir noch nicht genau kennen, eine Gefahr für den Menschen darstellt. Die bakteriologische Untersuchung alles notgeschlachteten Fleisches müßte verlangt werden.

Lentz (Berlin): Ergänzend kann ich meinen ersten Ausführungen noch hinzufügen, daß sich bei den Untersuchungen Herrn Amakos herausgestellt hat, daß die Erhitzung von Muskelstücken während 1 Minute im Oelbade von 200° C nicht genügt, um auf die Oberfläche aufgetragene Milzbrandsporen und Paratyphusbazillen mit Sicherheit abzutöten. Eine 2 Minuten lange Erhitzung brät und sterilisiert aber ein solches Stück durch und durch, so daß dann eine Prüfung natürlich Sterilität ergeben muß. Der Laboratoriumsversuch von Wyssokowitsch, auf den Herr Conradi verwies, kann doch unmöglich als Beweis für die hier in Frage stehenden praktischen Verhältnisse herangezogen werden.

Bezüglich des von Herrn Conradi gegen Herrn Amako erhobenen Vorwurfs, daß Herr Amako Versuchsfehler gemacht haben müsse, kann ich nur auf die demnächst in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten erscheinende, bereits im Druck befindliche Publikation von Amako verweisen.

Sobernheim (Berlin): Es erscheint nicht angängig, Bakterienarten, die zwar kulturell ganz den Enteritisbakterien gleichen, sich aber agglutinatorisch von ihnen unterscheiden, ohne weiteres zur „Paratyphusgruppe" zu zählen. Wenigstens nicht, soweit man unter Paratyphusbazillen pathogene Bakterien versteht. Solange wir solche Stämme nicht als Gärtner oder Paratyphus (A oder B) identifizieren bzw. ihre für



den Menschen pathogene Eigenschaften nachweisen können, müssen wir sie auseinanderhalten und von dem echten Paratyphus trennen. Wollte man alle im Darm gesunder Menschen und Tiere, in frischem Fleisch und in einwandfreien Fleischwaren, im Wasser usw. gelegentlich anzutreffenden Bakterien von den kulturellen Eigenschaften der Enteritisbakterien auch bei abweichendem agglutinatorischen Verhalten als Paratyphusarten ansprechen, wie Uhlenhuth meint, so wäre dies in praktischer Hinsicht recht bedenklich. Es liegt aber auch ein gewisser Widerspruch darin, wenn man einerseits von dem streng spezifischen Charakter der Agglutination, speziell im Bereich der Enteritisbakterien, überzeugt ist, andererseits aber das agglutinatorische Verhalten einer Kultur bei der Artbestimmung vernachlässigen will.

Der Einwand, daß die von uns beobachteten eigentümlichen Umwandlungsprozesse alte Laboratoriumskulturen betreffen, ändert nichts an der biologischen Bedeutung der Erscheinung. Ob auch frisch gezüchtete Stämme ähnliche Merkmale und Verschiedenheiten in ihrem agglutinogenen und agglutinablen Verhalten aufweisen, ist noch nicht sicher zu sagen. Das wäre eine Frage von wesentlich praktischer Bedeutung.

Wenn andere Untersucher an ihren Kulturen im Laufe der Jahre keine Veränderungen feststellen konnten, so liegt das zum Teil daran, daß bei dem üblichen Verfahren, wonach man von Zeit zu Zeit die Stämme wieder über die Platte schickt, abweichende Typen in Form von unregelmäßigen oder nicht agglutinablen Kolonien eliminiert und nur die typischen Formen herausgegriffen werden. So unterhält man gewissermaßen künstlich typische Kulturen. Uebrigens ergibt sich aus den älteren Mitteilungen von Bonhoff, v. Drigalski, sowie namentlich Trommsdorff unzweifelhaft, daß bei Enteritisstämmen biologische Veränderungen auch von anderer Seite beobachtet worden sind. Die Unregelmäßigkeiten lassen sich eben nicht als „Versuchsfehler" oder „Verwechslung von Kulturen" abtun. In gleichem Sinne sprechen die heutigen Angaben des Herrn Selter.

---

3. Tag. 21. Mai.

Vorsitzende: Uhlenhuth, Pfeiffer, Fischer, Gärtner.

I. Kraus und Volk (Wien):

Ueber Tuberkulose.[1])

I.

Meine Herren! So zahlreich die Arbeiten über Immunität bei allgemeiner Tuberkulose sind, so spärlich finden wir solche über experimentelle Immunität bei Tuberkulose der Haut. Es muß dies um so mehr wundernehmen, als Koch in einer seiner ersten diesbezüglichen Arbeiten (1891) über Immunität bei Hauttuberkulose berichtet. Infiziert man ein Meerschweinchen an einer Hautstelle mit einer Reinkultur von virulenten Tuberkelbazillen, so entwickelt sich nach einer Inkubation von etwa 14 Tagen ein derbes Knötchen, welches exulzeriert und dieses Ulkus bleibt bis zum Tode des Tieres bestehen. Infiziert man vier bis sechs Wochen nach gelungener Impfung dasselbe Tier an einer anderen Stelle, so ist der Verlauf ein ganz anderer, es kommt nämlich nicht zur Bildung eines Knötchens, sondern es entwickelt sich ein flaches Infiltrat von $^1/_2$ bis 1 cm Durchmesser schon nach ein bis zwei Tagen, dieses wird nekrotisch, die nekrotische Stelle

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1910. Nr. 19.



stößt sich ab, das zurückbleibende flache Ulkus heilt bald komplett aus.

Erst in den letzten Jahren sind Versuche, an Meerschweinchen und Kaninchen Hauttuberkel zu erzeugen, gemacht worden und Lewandowsky hat jüngst darüber berichtet und auch einige Immunitätsfragen berührt. Doch eignen sich diese Tiere zur Lösung mancher Fragen nicht so gut, wie Affen, welche von Kraus und fast gleichzeitig von Baermann und Halberstädter als Versuchstiere für die Experimentalforschung eingeführt wurden.

Nach den Untersuchungen von Kraus und Groß kann man bei der kutanen Affentuberkulose drei Typen unterscheiden je nach dem zur Infektion verwendeten Stamm:

1. progrediente Tuberkulose (Perlsucht, einige menschliche Stämme);
2. spontan ausheilende Tuberkulose (menschliche Stämme);
3. klinisch symptomlos verlaufende Infektion, wobei mikroskopisch massenhaft Tuberkelbazillen nachzuweisen sind (Vogeltuberkulose).

Infektion	Stamm	Resultat	Reinfektion	Stamm	Resultat
Rechte Augenbraue	Persucht	+	Linke Augenbraue	Blasentbk. (Mensch)	—
Rechte Augenbraue	"	+	Linke Augenbraue	Perlsucht	—
Rechte Augenbraue	Mensch	+	Linke Augenbraue	Blasentbk. (Mensch)	—
Rechte Augenbraue	"	+	Linke Augenbraue	Mensch [1])	—
Rechte Augenbraue	Courmont	+ spontan ausheilend	Linke Augenbraue	Blasentbk. (Mensch)	+
Rechte Augenbraue	Vogeltbk.	0 makroskopisch	Linke Augenbraue	Mensch (Vogel ?)	+
Rechte Augenbraue	Courmont	+ spontan ausheilend	Rechte Augenbraue	Blasentbk. (Mensch)	+
Rechte Augenbraue	Vogeltbk.	0 makroskopisch	Rechte Augenbraue	Mensch (Vogel ?)	+

Die Tabelle gibt Ihnen die Versuchsanordnung und die Resultate der Versuche bezüglich der Reinfektion bei Affen und zwar summarisch aus der Arbeit von Kraus und Groß und unseren jetzigen fortgesetzten Untersuchungen.

Aus diesen Versuchen läßt sich zusammenfassend vorläufig folgendes folgern:

[1]) Im mikroskopischen Schnitte (Demonstration) sind zahlreiche Tuberkelbazillen und kleinste leukocytäre Infiltrate um und in den Lymphgefäßen nachzuweisen.



1. Bei progredienter Tuberkulose der Haut setzt eine nach einer gewissen Zeit gesetzte zweite Infektion makroskropisch keine Veränderungen und zwar weder mit einem homologen, noch mit einem heterologen Tuberkulosestamm.

2. Bei ausheilender Hauttuberkulose (mit Stämmen menschlichen Ursprungs) fällt die zweite Infektion sowohl an der erst infizierten, wie auch an einer anderen Stelle positiv aus.

3. Klinisch resultatlos verlaufende erste Infektion mit Vogeltuberkulose beeinflußt eine zweite Infektion scheinbar in keiner Weise.

II.

Ueber differenzierende Frühreaktion mittels intrakutaner Injektion von Tuberkelbazillen.[1])

Die Pirquetsche Reaktion wurde bisher klinisch studiert, die Analyse derselben konnte nicht ausgeführt werden, weil an den Experimentaltieren, nämlich Meerscheinchen, keine sicheren Resultate erzielt wurden. Erst durch die Einführung der intrakutanen Tuberkulininjektion von Römer ließ sich diese Reaktion exakt verfolgen. Wir konnten feststellen, daß diese Reaktion auf Tuberkulin nur bei tuberkulösen Tieren auftritt, dagegen werden bei gesunden, noch bei Tieren, welche mit anderen Bakterien, wie Typhusbazillen, Choleravibrionen, sensibilisiert waren. Trotzdem die letzteren Tiere auf die betreffenden Bakterienarten mit Anaphylaxie reagierten, haben sie sich gegen das Tuberkulin wie normale Tiere verhalten. Auch Tiere, die mit lebenden, säurefesten Bakterien vorbehandelt waren, reagierten auf intrakutane Tuberkulininjektion nicht anders als normale Tiere.

Aber nicht nur auf Tuberkulin reagieren die Tiere, sondern auch auf lebende Tuberkelbazillen; mit diesen bekommt man auf intrakutane Injektion innerhalb 24 Stunden die typische Tuberkulininjektion, also eine sog. Frühreaktion im Sinne von Pirquet. Diese Reaktion kann man auch durch abgetötete Tuberkelbazillen auslösen.

Bezüglich ihrer Spezifizität wäre folgendes zu bemerken: Man kann mit der Methode der intrakutanen Tuberkelbazilleninjektion die Provenienz der Tuberkulose bis zu einem gewissen Grade bestimmen. Zwar gelingt es nicht bei Tieren, welche mit Stämme von Typus humanus und solchen, welche mit Typus bovinus infiziert sind, selbst unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse eine Differenz der Reaktion feststellen. Dagegen läßt sich sicher behaupten, daß Tiere, welche mit Geflügeltuberkulose vorbehandelt sind, auf Tuberkelbazillen gleichen Ursprungs mit Frühreaktion reagieren, dagegen auf Bazillen von menschlichem oder Rinderursprung fast gar nicht oder minimal reagieren. Auf Alttuberkulin haben die Tiere ganz gleichmäßig reagiert, ob sie mit Geflügel-, Mensch- oder Rindertuberkulose infiziert waren. Auch in der klinischen Medizin wurde Tuberkulin verschiedenen Ursprungs verwendet, ohne daß besondere Unterschiede aufgefallen wären. Es ist nicht nur mit lebenden, sondern auch mit abgetöteten Bazillen diese differenzierende Reaktion gelungen.

[1]) Erscheint ausführlich in der Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. VI. H. 5.



III.

Ueber eine besondere Wirkung der Extrakte tuberkulöser Organe des Meerschweinchens.[1])

Es wurden mit Tuberkelbazillen infizierte Meerschweinchen getötet und deren Organe, die anatomische Veränderungen aufwiesen (Leber, Milz), verrieben und mit 5—10 ccm Kochsalzlösung (0,85 proz.) extrahiert. Die Organextrakte wurden sofort zentrifugiert und durch Papier filtriert.

Das klare Filtrat erwies sich in Mengen von 1—2 ccm *intravenös* injiziert bei gesunden Meerschweinchen (Kaninchen) *giftig*. Die Tiere gehen entweder sofort nach der Injektion zugrunde oder sie verfallen kurze Zeit nach der Injektion in einen komaähnlichen Zustand und verenden nach einer halben Stunde. Bei der Obduktion dieser Tiere, wenn sie im Koma oder sofort nach dem Tode vorgenommen wird, findet man keine Anhaltspunkte für den Tod. Das Blut im Herzen ist flüssig. Gerinnsel sind nicht nachweisbar. In einzelnen Fällen mit protrahiertem Verlauf fanden wir Blutungen in der Bauchmuskulatur und Pleura, Lungenödem. Interessant ist die Beobachtung, daß die vergifteten Meerschweinchen häufig eine ausgesprochene *Hyperästhesie* zeigen.

Kontrollversuche mit Organen normaler Meerschweinchen (Leber, Milz) und mit solchen von mit Pferdeserum sensibilisierten ergaben negative Resultate. Diese Organextrakte haben sich, in gleicher Menge intravenös injiziert, als volkommen ungiftig erwiesen.

Was die Natur des tödlichen Körpers betrifft, so konnte ermittelt werden, daß er in Alkohol nicht löslich ist. Die Gifte sind labil. Bei Licht und Zimmertemperatur aufbewahrt, schwächen sie sich rasch ab, wohl aber lassen sie sich bei niedrigen Temperaturen konservieren. Bei 58° durch eine halbe Stunde erwärmt, gehen sie zugrunde.

Als sichergestellt können wir auf Grund unserer Versuche behaupten, *daß Extrakte tuberkulöser Organe (Leber, Milz) von Meerschweinchen intravenös Meerschweinchen injiziert, besondere Wirkungen entfalten. Gleiche und größere Mengen von Organextrakten derselben Tiere ohne makroskopisch nachweisbare Veränderungen, wie Niere, Nebenniere, Gehirn, sowie auch Organe gesunder Tiere sind nach unseren Erfahrungen wirkungslos.*

In letzter Zeit fanden wir, daß Extrakte aus Lungen gesunder Meerschweinchen ebenfalls giftig wirken. Es dürfte danach die Giftigkeit der tuberkulösen Organe dieser Tiere nicht auf spezifische Gifte zurückzuführen sein. Wir glauben, daß die Giftigkeit auf Körper, die normalerweise in gewissen Organen vorhanden sind, zurückzuführen ist. Unter pathologischen Verhältnissen kann diese auch in anderen Organen angetroffen werden, in welchen sie physiologisch nicht nachweisbar sind.

---

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1910. Nr. 8.

II. Paul H. Römer (Marburg):

Ueber tuberkulöse Reinfektion.

Die nachfolgende kleine Mitteilung soll im wesentlichen nur einen technischen Hinweis für die experimentelle Tuberkuloseimmunitätsforschung bringen.

Fast das einzige Versuchstier, bei dem wir in der Lage sind, durch Vorbehandlung mit unschädlichen, keine tuberkulösen Herde erzeugenden spezifischen Impfstoffen, also echten „Vaccins", mit großer Sicherheit einen experimentell nachweisbaren Tuberkuloseschutz zu erzeugen, ist das Rind. Nach Neufelds Mitteilungen kommen allenfalls noch der Esel und die Ziege in Betracht. Zweifellos wäre es nun für die weitere Erforschung des Wesens der Tuberkuloseimmunität sehr erwünscht, wenn wir an einem billigeren Versuchstier entsprechende Studien anstellen könnten.

Die Angabe Kochs nun vom Jahre 1891, daß ein bereits tuberkulöses Meerschwein auf eine tuberkulöse Reinfektion anders reagiert als das normale Tier, in einer Form reagiert, daß man es in gewissem Sinne als tuberkuloseimmun bezeichnen muß, konnte von seinen Nachprüfern nicht bestätigt werden. Trotzdem besteht die Kochsche Angabe völlig zu Recht. Den Grund für die Differenz in Kochs Befund einerseits und dem gegenteiligen Befund seiner Nachprüfer andererseits konnte ich durch systematische Untersuchungen am Meerschwein aufdecken. Mit Hilfe eines genauen quantitativen Vorgehens bei der Reinfektion bereits tuberkulöser Meerschweine kann man nämlich unschwer zeigen, daß gegen kleine Dosen des reinfizierenden Virus völlige Immunität bestehen kann, daß die Infektiosität mittlerer Dosen abgeschwächt wird, gegen große Dosen der Schutz versagt und endlich gegenüber massiven Dosen das bereits tuberkulöse Tier sich sogar überempfindlich erweist, indem es im Gegensatz zum normalen Kontrolltier an akuter Vergiftung zugrunde geht.

Daß man bei geeignetem Vorgehen diesen eigenartigen Schutz, den das tuberkulöse Meerschwein gegen eine tuberkulöse Reinfektion genießt, recht hübsch demonstrieren kann, soll der nachfolgende (an der Hand von Diapositiven erläuterte) Versuch zeigen.

Die Meerschweine 1864, 8057, 8187 und 8192 sind am 13. 1. 10 sämtlich einer intrakutanen (rechte Körperseite) Infektion mit $^1/_{1000000}$ mg rindvirulenter Tuberkelbazillen unterzogen worden. Bei den vor der Infektion noch nicht tuberkulösen Kontrolltieren 8064 und 8057 haben sich an der Infektionsstelle kraterförmige Geschwüre mit infiltrierten Rändern, zum Teil mit Knoten in der Umgebung gebildet, während die Meerschweine 8187 und 8192, welche am 29. 7. 09 bereits einer erfolgreichen subkutan (linke Körperseite) ausgeführten Infektion mit $^1/_{10000000}$ mg Tuberkelbazillen menschlicher Provenienz unterzogen waren, bis zum gleichen Tage, d. h. 3 Monate nach der Zweitinfektion, keinen deutlich



sichtbaren Effekt der Reinfektion davongetragen haben (Demonstration an Photographien).

Die Demonstration dieses eigenartigen Tuberkuloseschutzes ist also am Meerschwein möglich. Immerhin ist sie technisch nicht ganz leicht, weil einerseits die Erstinfektion nicht zu stark sein darf und andererseits auch die Dosis für die Zweitinfektion passend gewählt werden muß.

Sehr einfach und prompt läßt sich aber diese durch eine tuberkulöse Infektion erzeugte Widerstandsfähigkeit gegen eine tuberkulöse Reinfektion am Schaf demonstrieren. Das Schaf eignet sich auch deshalb vorzüglich für solche Versuche, weil bei ihm spontane Erkrankung an Tuberkulose so selten ist und daher die Sektionsbefunde sehr eindeutig sind. Man muß sich nur vor dem Fehler hüten, die bei Schafen nicht ganz seltenen Lungenknötchen, die nach Ausheilung von Nematodeninfektionen zurückbleiben, für Tuberkulose zu halten. Der Geübte erkennt den Unterschied ohne weiteres; im Falle eines Zweifels gibt ein Quetschpräparat rasch Aufschluß. Die nachfolgenden (an der Hand von Kurven erläuterten) Versuche sollen ein Bild derartiger, zum Nachweis von Tuberkuloseimmunität hervorragend geeigneter Versuchsanordnungen geben:

Versuch 1.

Die Schafe 94, 95, 79 und 85 wurden am 31. 3. 09 intravenös infiziert mit einer Rindertuberkelbazillenkultur, und zwar erhielt jedes Schaf $^{2}/_{10}$ mg Tuberkelbazillen pro 10 kg Körpergewicht, also sämtlich eine dem Gewicht genau entsprechende Dosis. Die Schafe 94 und 95 waren normale, noch nicht tuberkulöse Kontrolltiere, die Schafe 79 und 85 waren dagegen bereits am 6. 8. 08 einer subkutanen Infektion mit derselben Rindertuberkulosekultur ($^{1}/_{10}$ mg zu 10 kg Körpergewicht) unterzogen worden zusammen mit den ebenso infizierten Schafen 82, 81 und 86, welche der Zweitinfektion nicht unterzogen wurden.

Das Ergebnis des Versuches ist folgendes: Schaf 94 verendete am 23. 5. 09, Schaf 95 am 28. 5. 1909 an ausgedehnter Miliartuberkulose der Lungen. Die doppelt infizierten Tiere zeigten unmittelbar nach der Infektion im Gegensatz zu den Kontrolltieren zwar eine heftige, sich über mehrere Tage erstreckende Fieberreaktion, ohne nachher aber irgendeine erkennbare Störung ihres Allgemeinbefindens zu zeigen. Schaf 85 wurde am 1. 9. 09 zu diagnostischen Zwecken getötet. Es zeigte unter der Haut eine lokale Tuberkulose, herrührend von der ersten Infektion. In beiden Lungen fand sich je ein miliares Knötchen. Bei dem am 2. 9. 09 getöteten Schaf 82 (Kontrolle zur ersten Infektion) fand sich genau der gleiche Befund, nur etwas reichlichere Knötchen in den Lungen. — Schaf 79 wurde ebenfalls im besten Wohlbefinden am 8. 12. 09 zu diagnostischen Zwecken getötet. Auch bei ihm fanden sich in der Lunge vereinzelte miliare Tuberkel, die Lungenherde waren eher spärlicher als bei dem Schaf 81 und 86 (Kontrollen zur Erstinfektion), welche am 6. 11. 09 bzw. 8. 12. 09 zu diagnostischen Zwecken getötet waren.

Es haben sich mithin die bereits tuberkulösen Tiere 79 und 85 gegen die schwere, die Kontrolltiere in 8 Wochen tötende Zweitinfektion völlig immun erwiesen.



Versuch 2.

Die Schafe 99, 101, 83, 58, 59, 89, 47, 51 und 34 wurden am 25. 6. 09 intravenös infiziert, und zwar mit $^{2}/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht einer Rindertuberkelbazillenkultur. Schaf 99 und 101 sind normale, noch nicht tuberkulöse Kontrolltiere.

Schaf 83 hatte bereits vorher am 6. 8. 08 eine subkutane Infektion mit $^{1}/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht und am 27. 10. 08 $^{2}/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht der gleichen Rindertuberkelbazillenkultur subkutan erhalten.

Schaf 58 und 59 waren schon vorher am 6. 8. 08 subkutan infiziert worden mit $^{1}/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht der gleichen Rindertuberkulosekultur.

Schaf 89, 47, 51 und 34 waren am 27. 10. 08 mit der gleichen Rindertuberkulosekultur subkutan infiziert worden ($^{2}/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht).

Als Kontrollen für die beiden Erstinfektionen des Schafes 83 dient Schaf 80, das die gleichen Infektionen erlitten hat, aber nicht die intravenöse Infektion vom 25. 6. 09. — Für die Erstinfektion der Schafe 58 und 59 fehlen Kontrollen (wir könnten höchstens 81, 82, 86 des Versuches 1 als solche betrachten). Die Erstinfektion der Schafe 89, 47, 51 und 34 wird kontrolliert durch die Schafe 90, 49 und 35, welche nur die eine Infektion vom 27. 10. 09 erhalten haben.

Das bisherige Ergebnis des Versuches ist folgendes: Das Kontrollschaf 101 ist am 24. 8., das Kontrollschaf 99 am 25. 8. an ausgedehnter Miliartuberkulose der Lungen verendet. Die Schafe 83, 58 und 59 leben noch und befinden sich sehr wohl. Die Schafe 58 und 59 haben Anfang März 1910 gesunde Lämmer geboren. Schaf 59, 47, 51 und 34 sind nebst den zugehörigen Kontrollen (zur Erstinfektion) Nr. 90, 49 und 35 in der Zeit vom 29. 4. 10 bis 4. 5. 10 sämtlich in ausgezeichnetem Allgemeingesundheitszustande zu diagnostischen Zwecken getötet worden. Es fanden sich bei allen Schafen an der subkutanen Infektionsstelle walnußgroße verkäste Knoten, Schwellungen der benachbarten Axillar- und Bugdrüsen, zum Teil mit verkalkten Tuberkuloseherden. Die inneren Organe, speziell auch die Lungen, erwiesen sich bei allen frei von tuberkulösen Herden.

Die Schafe 89, 47 51 und 34 haben sämtlich im Februar bzw. März 1910 gesunden Lämmern das Leben geschenkt.

Auch in diesem Versuch ist die völlige Immunität der schwachtuberkulösen Schafe gegen die Reinfektion sehr deutlich nachzuweisen gewesen.

Versuch 3.

In diesem Versuch sollte durch Verwendung einer exorbitant hohen Dosis des reinfizierenden Virus die Stärke der Immunität bereits tuberkulöser Schafe auf die Probe gestellt werden. Am 22. 11. 09 wurden die Schafe 111, 71, 92 und 33 intravenös infiziert mit derselben, auch zu den Versuchen 1 und 2 benutzten Rindertuberkulosekultur, und zwar



erhielt jedes Tier 1 mg zu 10 kg Körpergewicht, also das 5fache der in den Versuchen 1 und 2 angewandten Dosis. Schaf Nr. 111 ist ein normales, noch nicht mit Tuberkelbazillen behandeltes Kontrolltier. Schaf 71 war bereits am 6. 8. 08 und am 4. 1. 09 subkutan mit derselben Rindertuberkelbazillenkultur infiziert worden und zwar mit $^1/_{10}$ bzw. $^2/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht. Schaf 33 war in ähnlicher Weise subkutan mit kleinen Dosen Rindertuberkulosevirus infiziert worden am 20. 9. 06 und am 6. 8. 08. Schaf 92 war nur am 4. 1. 09 mit $^2/_{10}$ mg pro 10 kg Körpergewicht der gleichen Rindertuberkulosekultur subkutan infiziert worden. Der Verlauf des Versuches war folgender:

Bei Kontrollschaf 111 nach kurz dauerndem Inkubationsstadium rasch ansteigendes Fieber und Tod nach 28 Tagen an enormer Miliartuberkulose der Lungen.

Die bereits tuberkulösen Schafe 71, 33 und 92 antworteten auf die Infektion vom 22. 11. 09 mit einer sofortigen und mächtigen Fieberreaktion, zeigten schwere Dyspnoe und Schaf 71 verendete 48 Stunden nach der Infektion an einem starken Lungenödem. Schaf 33 erholte sich und befand sich bereits von Anfang Dezember ab in sehr gutem Allgemeinzustande; es schenkte Mitte Februar 2 gesunden Lämmern das Leben. Das Tier lebt zurzeit noch. Schaf 92 erholte sich nach anfänglich starkem Gewichtsverlust ebenfalls allmählich. Am 28. 4. 10 wurde es zusammen mit dem Schaf 93 (Kontrolle zur Erstinfektion), das nur die erste Infektion vom 4. 1. 09 erlitten hatte, getötet. Bei beiden Schafen fand sich eine lokale Tuberkulose an der ersten subkutanen Infektionsstelle mit Herden in den benachbarten Bugdrüsen und Kniefaltendrüsen. Ferner fanden sich bei beiden Schafen in der Leber und in den Lungen miliare, in den Lungen auch bis linsen- und erbsengroße tuberkulöse Herde. Die Herde waren bei dem doppelt infizierten Tier 92 in diesem Falle deutlich reichlicher.

Auch gegenüber der exzessiv schweren Infektion vom 25. 11. 09 erwiesen sich die bereits tuberkulösen Schafe immun, wenn sie auch anscheinend keine völlige Immunität bewiesen.

Bemerkenswert war in allen vorstehenden Versuchen die starke Ueberempfindlichkeitsreaktion, welche die bereits tuberkulösen Tiere auf die Neuinfektion zeigten.

Es verdienen wohl noch Versuche Interesse, die ich an den jungen Lämmern aller der aufgeführten tuberkulösen und damit tuberkuloseimmunen Schafe angestellt habe. Ich infizierte sie zusammen mit Kontrolltieren, d. h. von normalen Müttern abstammenden Lämmern, intravenös mit Rindertuberkelbazillen. Alle Lämmer wurden mit genau der gleichen Dosis des gleichen Kulturstammes, der auf demselben Nährboden (Glyzerinbouillon) gewachsen und fast gleich lang in jedem Falle gewachsen war, infiziert. Irgendwie bemerkenswerte Unterschiede im Infektionserfolg zwischen den Lämmern der normalen Mütter und den Lämmern der tuberkulösen Mütter traten nicht zutage. Es hat also weder intrauterin, noch durch die Säugung die Uebertragung einer unter den von mir gewählten Bedingungen nachweisbaren Immunität statt-



gefunden. Ebensowenig konnte aber auch eine besondere Prädisposition der von den tuberkulösen Müttern stammenden Lämmer für die künstliche Tuberkuloseinfektion nachgewiesen werden. Endlich konnte ich beim Vergleich des Ergebnisses dieser an säugenden Lämmern ausgeführten Infektionsversuche mich nicht davon überzeugen, daß die künstlich erzeugte Tuberkulose im Organismus des säugenden Lammes eine Neigung zu rascherem Fortschreiten zeigt, verglichen mit der Tuberkulose beim erwachsenen Schaf. Bekanntlich wird das für die spontane Tuberkulose des menschlichen Säuglings von den Aerzten angenommen.

III. Ungermann (Groß-Lichterfelde):

Ueber Tuberkuloseopsonine.

(Auszug.)

Pochin, der als erster die opsonische Wirkung des Menschen- und Rinderserums auf den Typus humanus und bovinus miteinander verglich, hatte gefunden, daß Menschenserum auf Perlsuchtbazillen stärker phagocytär wirke als auf humane Bazillen. Strubell und Felber dagegen beobachteten bei 21 Proz. der normalen Rinder einen höheren opsonischen Index für den Typus bovinus als für den humanus. Die Autoren setzen die Parallelität zwischen erhöhtem Index und erhöhter Resistenz als selbstverständlich voraus, und so schließt Pochin, daß das Rind für den Typus bovinus etwa $1^3/_4$ mal empfänglicher sei als für den Typus humanus, während Strubell und Felber von einer durch Vererbung und Anpassung erreichten verhältnismäßig höheren opsonischen Immunität des Rindes gegen Perlsuchtbazillen sprechen. Zur Klärung dieser Frage wurden nun die Sera von 5 normalen Menschen und 2 Rindern nach der Wrightschen Methode wiederholt gleichzeitigen Prüfungen ihrer opsonischen Fähigkeiten gegenüber den beiden Bazillentypen unterzogen. Dabei wurde im Gegensatz zu den früheren Untersuchungen besonderer Wert darauf gelegt, daß von jedem Typus mehrere Stämme zur Verwendung kamen; es gelangten 2 bovine Kulturen von bekannter Rindervirulenz und 5 größtenteils frisch gezüchtete humane Stämme zur Untersuchung. Das Ergebnis eines derartigen Versuches, in dem je 2 Menschen- und Rindersera mit je 2 humanen und bovinen Emulsionen kombiniert wurden, ist in der folgenden Tabelle dargestellt. Die Indices sind

	Humane Kultur Nr. 102	Humane Kultur 34 b	Bovine Kultur Sp. Tb. K.	Bovine Kultur P. 8
Menschenserum Sch.	1,11	1,03	1,00	0,96
Menschenserum N.	0,87	0,98	0,99	0,94
Rinderserum I	0,92	1,14	0,91	1,03
Rinderserum II	1,06	1,16	0,98	1,17



auf das Mittel der phagocytären Zahlen der Menschensera als Einheit bezogen.

Die Resultate einiger anderer Versuche zeigten ein von dem oben dargestellten etwas abweichendes Bild, in dem bisweilen eine humane Kultur von Rinderserum in der Tat stärker beeinflußt wurde als die gleichzeitig geprüften Perlsuchtstämme; jedoch resultierte aus anderen Kombinationen das gerade Gegenteil, so daß also kein grundsätzlicher Unterschied zwischen der Wirkung des Menschen- und des Rinderserums den beiden Typen gegenüber zu erkennen war. Aus diesem Ergebnis dürften die beiden Schlüsse gezogen werden, daß sich erstens aus den Untersuchungen kein Anhaltspunkt für die Annahme ergibt, daß die natürliche Immunität bei Tuberkulose auf Opsoninen beruhe, und zweitens, daß sich die Normalopsonine des Menschen- und Rinderserums nicht zur Differenzierung der Bazillentypen verwerten lassen.

Auch die Sera einer größeren Anzahl mit menschlichen Tuberkelbazillen vorbehandelter Ziegen und Kaninchen lieferten in der letzteren Hinsicht bisher keine sicheren Resultate, obwohl sie bei der Prüfung nach der Methode Wrights teilweise eine sehr beträchtliche Erhöhung des opsonischen Index zeigten, die zum Teil auch noch bei einer Verdünnung von 1:50 bemerkbar war. Die Sera enthielten keine sicheren elektiv wirkenden phagocytären Stoffe für die zur Vorbehandlung verwendeten humanen Bazillen, was mit der Tatsache, daß nach Injektion von Bazillen des einen Typus Immunität auch gegen den heterologen auftreten kann und mit dem von Sobernheim beobachteten Uebergreifen der bei Immunisierung mit Tuberkelbazillen auftretenden Bakteriotropine sogar auf die anderen säurefesten Bazillen im Einklang steht. Vielleicht gelingt die Differenzierung der Typen aber doch mit einem Immunserum, das auch noch in recht starken Verdünnungen opsonisch wirkt, wie es Meakins zu gewinnen glückte. Auch über die Beziehungen dieser spezifischen Opsonine zur erworbenen Immunität gegen Tuberkulose sind die Versuche noch nicht abgeschlossen; jedenfalls scheint der opsonische Index auch für die erworbene Immunität gegen Tuberkulose nicht ohne weiteres einen Maßstab zu bieten, denn ein Kaninchen, das den höchsten überhaupt beobachteten Index erworben hatte, erlag der Infektion mit einer geringen Menge Perlsuchtbazillen in der gleichen Zeit wie die nicht vorbehandelten Kontrollen.

IV. Zwick (Groß-Lichterfelde):

Ueber die Beziehungen zwischen Säugetier- und Hühnertuberkulose, insbesondere über das Vorkommen von Hühnertuberkelbazillen beim Pferd.

Die Tuberkulose des Pferdes ist bis jetzt in bakteriologischer Hinsicht noch wenig geklärt; dies hängt mit ihrem verhältnismäßig seltenen Auftreten zusammen. Nocard ist der Ansicht, daß eine gewisse Form der Pferdetuberkulose, die abdominale, auf einer Infektion mit Hühnertuberkelbazillen beruhe. Titze, der reichliche Mengen von Hühnertuberkelbazillenkulturen an ein Fohlen verfütterte, konnte auf diese Weise Tuberkulose nicht hervorrufen. In einem Fall von Pferdetuberkulose, den Z. früher zu untersuchen Gelegenheit hatte, konnte man eine Bestätigung der Nocardschen Ansicht sehen, da zwei geimpfte Meerschweinchen frei von Tuberkulose blieben, trotzdem das Impfmaterial reichlich Tuberkelbazillen enthielt. Im Gesundheitsamt wurden bis jetzt 7 Fälle von Pferdetuberkulose näher untersucht; von 6 liegt das fertige Ergebnis vor. Sämtliche 6 Stämme erwiesen sich bei subkutaner Verimpfung von 1 cg an Kaninchen pathogen, jedoch ein Stamm in geringerem Grade; er löste bei einzelnen Kaninchen nur lokale Tuberkulose aus. Dieser Stamm und zwei andere zeigten auf Glyzerinbouillon ein Wachstum, das sehr an dasjenige des Typus humanus erinnerte. Die drei übrigen Stämme dagegen trugen die unverkennbaren Merkmale des Typus bovinus an sich.

Die weiteren Untersuchungen bezogen sich auf die Frage der Umwandlung von Säugetier- und Hühnertuberkelbazillen. Diese Frage ist durch eine neuere Veröffentlichung von O. Bang, dem in 6 unter 7 Fällen die Umwandlung gelungen ist, akut geworden. Bang legte bei seinen Umwandlungsversuchen besonderes Gewicht darauf, daß zwischen zwei Hühnerpassagen eine Kaninchenpassage eingeschaltet wird. In einer Versuchsreihe wurde bei den Untersuchungen im Gesundheitsamt ein Ergebnis erzielt, aus dem man die Möglichkeit der Umwandlung ableiten könnte. Ausgangskultur war die Reinkultur eines Rindertuberkulosestammes. Er wurde zunächst auf ein Kaninchen, von diesem durch intratracheale Impfung auf ein Huhn übertragen, bei dem es zur Ausbildung einer Lungentuberkulose kam; es geschah eine weitere Uebertragung zunächst auf ein Kaninchen, sodann wurde mit tuberkulösem Lungenmaterial von diesem Kaninchen ein Huhn intraperitoneal und zwar zufällig in die Leber geimpft. Um die Impfstelle entwickelte sich eine umschriebene Tuberkulose, außerdem war bei dem Huhn noch Tuberkulose der Milz vorhanden. Die aus diesem Huhn gezüchtete Reinkultur zeigte die typischen Merkmale der Hühnertuberkulose. Weitere Untersuchungen sind noch erforderlich, da dieser eine Fall in dieser prinzipiellen Frage kein zuverlässiges Urteil ermöglicht.



V. C. Titze (Groß-Lichterfelde):

Zur Epidemiologie der Rindertuberkulose.

Weber und ich haben in unseren Infektionsversuchen an Milchkälbern gefunden, daß bereits $^1/_{10}$ mg Perlsuchtbazillen zu einer sicheren Inhalations-Infektion ausreichten, während die sicher infizierende Mindestdosis, per os verabreicht, 100 mg betrug, also 1000mal so groß sein mußte.

Für die Kälber kommt in den ersten Lebenswochen vor allem die Fütterungsinfektion in Betracht, für die älteren Tiere die Inhalationsinfektion. Dies ergibt sich aus den Schlachtbefunden.

Tuberkelbazillen werden lediglich von Rindern mit sog. offener oder gefährlicher Tuberkulose ausgeschieden. Bei Rindern mit offener Lungentuberkulose erfolgt die Ausscheidung vorwiegend mit dem Kote.

Was die Bekämpfung der Rindertuberkulose anbelangt, so haben die Immunisierungsversuche den anfänglich großen Erwartungen nicht entsprochen. Es ist überhaupt fraglich, ob sich durch Impfungen eine Widerstandsfähigkeit der Rinder gegen Tuberkulose in einer für die Praxis ausreichenden Weise erzeugen läßt.

Es bleiben demnach die von Bang und Ostertag angegebenen und hinlänglich bekannten Bekämpfungsmethoden.

Die Ausmerzung der Rinder, die Tuberkelbazillen ausscheiden, ist von der größten Bedeutung. Eine erhebliche Schwierigkeit liegt aber in dem Herausfinden dieser Tuberkelbazillenausscheider, namentlich ist die Erkennung der offenen Lungentuberkulose oft sehr schwer oder gar unmöglich, weil es nicht immer gelingt, Lungenauswurf für die Untersuchung zu erhalten. Hier kann die Untersuchung des Kotes, die aber nur durch Meerschweinchenimpfung absolut sichere Ergebnisse hat, noch zum Ziele führen.

Es kann wohl nicht mehr zweifelhaft sein, daß beim Menschen eine Tuberkulinbehandlung imstande ist, eine Besserung der Tuberkulose herbeizuführen. Während beim tuberkulösen Menschen aber große Vorsicht in der Tuberkulinbehandlung angezeigt ist, ist das Tuberkulin für tuberkulöse Rinder in den zu verwendenden Dosen nicht gefährlich. Es lag demnach nahe, bei tuberkulösen Rindern, die nicht an den gefährlichen Formen litten, Heilversuche mit Tuberkulin anzustellen.

Im März 1909 haben wir bei 6 Kühen im Alter von 6—8 Jahren, die in beiden Jahren vorher und auch im März 1909 auf Tuberkulin ausgesprochene Reaktionen gezeigt hatten, Heilversuche durch Einspritzungen von Tuberkulin aus menschlichen Tuberkelbazillen in der Weise angestellt, daß die Tiere in Abständen von 6 Wochen zunächst zweimal mit je 0,5 ccm Tuberkulin gespritzt wurden und dann je zweimal mit 1,0 ccm Tuberkulin. Die letzte Tuberkulinimpfung erfolgte Anfang August 1909. Ende April 1910, also $8^1/_2$ Monate später, wurden die 6 gut genährten Kühe mit je 0,75 ccm Tuberkulin geprüft, worauf von den 6 Tieren nur noch 1 reagierte. Es scheint demnach die Tuber-

kulose bei 5 Rindern zur Abheilung gekommen zu sein. Der sichere Beweis hierfür könnte vielleicht durch die Schlachtung erbracht werden, die aber aus zwingenden Gründen unmöglich ist.

Wir haben nun Ende April dieses Jahres einen Heilversuch mit Tuberkulin auf einem Rittergute mit annähernd 200 Rindern eingeleitet und werden in etwa 2 Jahren über das Ergebnis berichten.

Diskussion:

Reichenbach (Bonn): Zu den Ausführungen des Herrn Ungermann über Tuberkuloseopsonine möchte ich bemerken, daß im Breslauer hygienischen Institut in der letzten Zeit meines dortigen Aufenthalts aus denselben theoretischen Erwägungen heraus ganz ähnliche Versuche von Herrn Stabsarzt Köhlisch angestellt worden sind. Auch die Resultate waren im wesentlichen dieselben: der opsonische Index gegen Typus humanus und Typus bovinus war bei allen geprüften Tierarten der gleiche, ohne daß sich irgendein Einfluß der Empfänglichkeit für einen der beiden Typen feststellen ließ.

Herrn Titze möchte ich fragen, ob er wirklich glaubt, daß das betreffende Kalb in der kurzen Zeit die enorme Menge von 100 mg Tuberkelbazillen, die doch nach den Versuchen des Gesundheitsamts zur intestinalen Infektion erforderlich ist, aus dem Kot per os aufgenommen hat.

Was die Ausführungen von Herrn Römer anlangt, so wird sich die Frage, wieweit die Tiere durch die erste Infektion mit Tuberkulose wirklich immun geworden sind, wohl am besten entscheiden lassen, wenn man die zweite Infektion, wie es ja auch in der Wirklichkeit der Fall ist, durch Inhalation sich vollziehen läßt. Mit solchen Versuchen bin ich jetzt beschäftigt.

Sobernheim (Berlin): Von Interesse erscheinen die Befunde, die Herr Kraus bei der Reinfektion tuberkulöser Meerschweinchen erhoben hat. Die Differenzen, die hierbei je nach der Verwendung lebender Kulturen oder von Tuberkulin zutage treten, lassen sich auch im Reagenzglasversuch nachweisen. Man erhält mit einem hochwertigen Tuberkuloseserum (Pferd, Ziege) spezifische Reaktionen, sobald man Aufschwemmungen lebender Bakterien benutzt. Ein mit Bazillen des Typus humanus erzeugtes Serum agglutiniert nur Tuberkelbazillen des Menschen, allerdings auch des Rindes, sonst aber keine Tuberkulosekulturen oder gar säurefeste Arten. Die Komplementbindung mit Tuberkulin läßt demgegenüber spezifischen Charakter vermissen; sie fällt in jedem Falle positiv aus, gleichgültig ob das Tuberkulin aus irgendeiner Tuberkulosekultur oder aus säurefesten Stämmen gewonnen wurde.

Die bakteriotrope Wirkung des Tuberkuloseserums entbehrt ebenfalls des spezifischen Charakters und äußert sich gegenüber säurefesten Saprophyten so gut wie gegen Tuberkelbazillen.

Bongert (Berlin): Ich bin seit mehreren Jahren mit Uebertragungsversuchen der Säugetiertuberkulose auf Geflügel beschäftigt. Es ist mir nicht gelungen, Hühner und Tauben per os durch häufig wiederholte Verabreichung von stark tuberkelbazillenhaltigen tuberkulösen Organteilen von Rindern oder von Rindertuberkelbazillenreinkulturen tuberkulös zu machen. — Von meinen Tuberkuloseübertragungsversuchen bei Ratten ausgehend, bei denen es mir ebenfalls nicht gelang Tuberkulose per os zu erzeugen, dahingegen sehr leicht durch Inhalation von Aufschwemmungen von Rindertuberkelbazillenkulturen, versuchte ich nunmehr, Tauben durch intralaryngeale Injektionen von Rindertuberkelbazillen-Aufschwemmungen zu infizieren. Ich wählte als Versuchstiere Tauben, da bei diesen nur sehr selten spontane Tuberkulose zur Beobachtung gelangt, und versuchte nicht durch Inhalation, sondern durch intralaryngeale Injektion die Tuberkuloseinfektion von den Lungen aus herbeizuführen, da die Vögel bekanntlich 2 Kehlköpfe haben, einen Larynx und einen Syrinx, so daß von inhalierten Krankheitskeimen vermutlich keiner bzw. eine nicht genügende Menge derselben bis in die Lungen gelangen kann. In der Tat ist es auch Herrn Zwick, wie wir gehört haben, nicht gelungen, Tauben und Hühner durch Inhalation von Säugetiertuberkelbazillen-Aufschwemmungen tuberkulös zu machen; er hatte aber Erfolg, als er, meinem Vorschlage entsprechend, die Rindertuberkelbazillenaufschwemmung intralaryngeal oder -tracheal einspritzte.

Die Infektionsdosis betrug 0,005—0,01 g Rindertuberkelbazillen-Kultur, die mit sterilem Wasser zu einer feinen Emulsion verrieben wurde. Die Flüssigkeitsmenge, die



auf einmal intralaryngeal eingespritzt wurde, betrug 0,5—0,75 ccm. Nach Oeffnen des Schnabels durch gleichzeitiges Hoch- bzw. Herunterziehen des Ober- und Unterschnabels gelingt es leicht, die abgestumpfte, dünne Kanüle einer g-Spritze, in welche die Tuberkelbazillenemulsion aufgesogen ist, in den Larynx und weiter nach unten in die Trachea einzuführen und ganz allmählich die Impfflüssigkeit einzuspritzen. Die Tauben vertragen die intralaryngeale Injektion der angegebenen Flüssigkeitsmenge ohne Nachteil.

Es machte sich nun in auffallender Weise bei den geimpften Tauben eine individuelle Disposition zur tuberkulösen Erkrankung geltend. Bei einzelnen Tauben gelang es nicht, selbst durch wiederholte Injektionen Tuberkulose zu erzeugen. Es empfiehlt sich daher, mehrere Tauben zu gleicher Zeit zu infizieren. Im Verlauf von 2—3 Monaten entwickelt sich bei dem größeren Teil der Impftauben eine Tuberkulose der Lungen, die sich alsdann auf die Luftsäcke und in die Bauchhöhle hinein erstreckt. Aus den tuberkulösen Lungen der Tauben gelingt es leicht bei steriler Materialentnahme, meist schon innerhalb 2—3 Wochen Reinkulturen von Tuberkelbazillen zu erhalten, die morphologisch und kulturell vollkommen mit echten Geflügeltuberkelbazillenkulturen übereinstimmen. Die Kulturmasse ist weich, schmierig, läßt sich leicht ausstreichen, und im mikroskopischen Präparat zeigen die Tuberkelbazillen lange Formen zum Unterschied von den meist kurzen Stäbchenformen der Rindertuberkelbazillen. Ich habe bis jetzt 4 Rindertuberkelbazillenstämme bis zur dritten Taubenpassage fortgezüchtet. Mit diesen Taubenpassagekulturen von Rindertuberkelbazillen ist es mir jetzt auch gelungen, Tauben und Hühner per os und auch durch intramuskuläre bzw. subkutane Impfung tuberkulös zu machen. Diese Kulturen zeigen auch für Meerschweinchen ein geringeres pathogenes Vermögen als vorher. Es gelingt aber auch, aus den tuberkulösen Herden dieser Meerschweinchen innerhalb 3 Wochen eine Reinkultur mit aviärem Typus zu gewinnen.

Aus meinen Versuchen, über die ich bereits im vorigen Jahre auf dem Internationalen Veterinärkongreß im Haag berichtet habe und die durch Herrn Zwick ihre Bestätigung gefunden haben, geht hervor, daß die Säugetiertuberkulose entgegen der bisher herrschenden Ansicht auf das Geflügel übertragbar ist, wofür auch eine Reihe einwandfreier Beobachtungen aus der Praxis sprechen.

Römer (Marburg): Die Angabe des Herrn Kraus, ich nähme im Gegensatz zu ihm an, nur eine ausgeheilte, nicht eine aktive Tuberkulose erzeuge Immunität gegen eine Reinfektion, muß auf einem Mißverständnis beruhen. Ich habe im Gegenteil stets und im Gegensatz zu französischen Autoren den Standpunkt vertreten, daß es gerade die aktive Tuberkulose ist, die vor der Reinfektion schützt, während nach wirklicher Abheilung der tuberkulösen Infektion jeder Schutz verschwunden sein kann. Ich habe expressis verbis die Verhältnisse bei der Syphilis mit der Tuberkuloseimmunität in Analogie gesetzt.

Was sodann weiter die Bemerkung des Herrn Kraus betrifft, daß die reinfizierenden Tuberkelbazillen beim immunen Tier am Orte der Infektion nicht zugrunde gehen, so weise ich darauf hin, daß ich das gleiche bereits früher festgestellt und publiziert habe (Brauers Beiträge Bd. XIII). Es spricht aber diese Feststellung meines Erachtens durchaus nicht gegen die von mir gemachte Annahme, daß die beim immunisierten Tier beobachtete Tuberkelbazillenüberempfindlichkeit in kausalem Zusammenhang mit der Immunität steht.

Zu dem Vortrage des Herrn Titze habe ich folgendes zu bemerken: Es ist meines Erachtens falsch, einen Unterschied in der Widerstandsfähigkeit tuberkuloseimmunisierter Rinder gegen natürliche Infektion einerseits und gegen künstliche Infektionen andererseits zu konstruieren. Der Grund, warum man häufig das schutzgeimpfte Tier der natürlichen Infektion erliegen sieht, beruht darin, daß diese natürliche Infektion zu einem Zeitpunkt erfolgt, wo die Immunität noch nicht eingetreten ist. Es ist ja eine bekannte Crux für die praktische Verwertung der Tuberkuloseimmunität, daß sie erst einige Zeit (3—4 Monate) nach der Schutzimpfung einsetzt. Die Versuche im Reichsgesundheitsamt, nach denen schutzgeimpfte Rinder der „natürlichen" Infektion nicht widerstanden, scheinen mir außerdem nicht unter natürlichen Bedingungen erfolgt zu sein. Die unter wirklich natürlichen Verhältnissen angestellten Versuche Te Hennepes und Lellmanns beweisen, daß auch gegen spontane Erkrankung an Tuberkulose die Schutzimpfung erhöhte Widerstandsfähigkeit verleiht.

Die von Herrn Titze betonte Unschädlichkeit einer nach Vorschrift ausgeführten subkutanen Tuberkulinprüfung des Rindes kann ich durch Erfahrungen an etwa 3000 Rindern bestätigen. Trotzdem verweise ich empfehlend auf die viel einfachere, weniger kostspielige und ebenso zuverlässige von mir und Joseph ausgearbeitete Methode der



intrakutanen Tuberkulinprüfung, die bei strenger Beachtung der von uns ausgearbeiteten Methodik uns sehr gute Ergebnisse geliefert hat.

Die vorhin von Herrn Kraus geschilderten Versuche zeigen, daß die Tuberkuline aus Menschen-, Rinder- oder Hühnertuberkelbazillen als qualitativ gleichwertig anzusehen sind. Das gleiche hat eine aus dem Kaiserl. Reichsgesundheitsamt jüngst publizierte Arbeit von Dieterlen bewiesen. Ich weise aber darauf hin, daß diese Arbeit Dieterlens nichts ist als eine Wiederholung und Bestätigung meiner viel umfangreicheren bereits 1903 (Beiträge zur experimentellen Therapie, Heft 6) publizierten Untersuchungen. Auch in dem bekannten Handbuch der Immunitätsforschung von Kraus und Levaditi habe ich auf diese meine früheren Untersuchungen hingewiesen. Es ist mir nicht recht verständlich, weshalb mein Name von Dieterlen nicht zitiert wird, obwohl er die Namen zahlreicher anderer Autoren, die sich mit dem gleichen Problem nach mir beschäftigt haben, nennt.

Endlich begrüße ich es nicht ohne Genugtuung, daß ein dem Reichsgesundheitsamt zugehöriger Autor nunmehr wenigstens die Möglichkeit zugibt, daß ein Tuberkelbazillentypus in den anderen eventuell übergeführt werden kann. Der dogmatische Standpunkt, der selbst Möglichkeiten ausschließen wollte, ist es, den ich bisher stets bekämpft habe.

Zwick (Groß-Lichterfelde): Mit dem von mir erwähnten Fall halte ich, wie ich noch ausdrücklich betonen möchte, den Nachweis für die Möglichkeit der Umwandlung der Säugetier- in Hühnertuberkelbazillen noch nicht für erbracht. Vielmehr soll die gegebene Mitteilung Anregung zu weiterer Nachforschung in der eingeschlagenen Richtung geben.

Sticker (Berlin): Um differential diagnostisch wichtiges Material zu dem experimentellen Lymphosarkom des Hundes zu erhalten, habe ich mit Ernst Löwenstein-Beelitz intraperitoneale Impfungen mit säurefesten Bakterien beim Hunde vorgenommen.

Das interessante Ergebnis war, daß *Tb. typ. hum.* sich weit pathogener erweist als *Tb. typ. bovin.* Während letzterer nur vereinzelte Knoten im Netz macht und in vielen Fällen sogar zur Heilung kommt, macht der Tuberkelbazillus menschlicher Herkunft umfangreiche Miliartuberkulose des Bauchfells und fast aller Organe.

Auch bei den subkutanen Impfungen ähnliche Ergebnisse.

Ich verweise auf meine ausführliche Publikationen in der Festschrift für Schütz (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde, 36. Bd. 1910) und im Centralbl. f. Bakteriologie, 55. Bd. 4. Heft. 1910.

Titze (Groß-Lichterfelde): Für die wichtigste Infektionsart bei der Tuberkulose der Rinder halte ich die durch Inhalation der tuberkelbazillenbeladenen Tröpfchen, die mit den Hustenstößen ausgestreut werden; dann kommt die Deglutitionsinfektion der Kälber durch tuberkelbazillenhaltige Milch. Die übrigen Infektionsmöglichkeiten sind von mehr untergeordneter Bedeutung. Hierzu gehört auch die Infektion durch die Aufnahme von tuberkelbazillenhaltigem Kot, wie er von Rindern mit offener Lungentuberkulose ausgeschieden wird. Kälber können beim Saugen derartigen Kot leicht mit verschlucken, da die Euter der Kühe gewöhnlich mit Kot beschmutzt sind. Der Kot von Kühen mit offener Lungentuberkulose kann so reich an Tuberkelbazillen sein, daß es wohl möglich ist, daß Saugkälber auf diese Weise die zur Infektion per os nötige Menge von Tuberkelbazillen aufnehmen.

Was den Wert der Kuti- und Ophthalmoreaktion für den Nachweis der Rindertuberkulose anbelangt, so kann ich die vielfach in der Literatur geäußerte optimistische Ansicht nicht teilen, da bei meinen Versuchen der Prozentsatz der Fehlergebnisse so groß war, daß ein praktischer Nutzen dieser Methoden sehr zweifelhaft ist. Eine objektive Grundlage zur Entscheidung der Frage, wann von positivem und wann von negativem Ergebnis der Reaktion gesprochen werden muß, fehlt.

Pfeiffer (Breslau): Es hat mich gewundert, daß Herr Titze bei der Uebertragung der offenen Tuberkulose von Rind zu Rind den in den Kot übergehenden Tuberkelbazillus die Hauptbedeutung zumißt. Er hat dabei die Möglichkeit der Infektion mit Flüggeschen Tröpfchen nicht genügend Rechnung getragen. Ich halte letzteren Infektionsmodus für bedeutungsvoller.

Bei der Frage der Umwandlung von Säugetiertuberkulose und Hühnertuberkulose darf die Abänderung rein kultureller Eigenschaften nicht zu sehr in den Vordergrund gestellt werden. Es wird zu prüfen sein, ob die angeblich umgewandelten Kulturen



auch in allen sonstigen biologischen Eigentümlichkeiten den Hühnertypus angenommen haben.

Ich möchte noch hinzufügen, daß ich an eine eigentliche Tuberkuloseimmunität nicht glauben kann. Ich sehe nur Ueberempfindlichkeit und diese letztere ist es, welche das Haften der Tuberkelbazillen bei Reinfektion verhindert. Es ist hier ein neues Beispiel für die teliologische Bedeutung der Entzündung gegeben.

Loeffler (Greifswald): Vor einer Reihe von Jahren habe ich Hunde intraperitoneal mit Reinkulturen von Tuberkelbazillen behandelt; ich hoffte dadurch Unterschiede zwischen humanen und bovinen Tuberkelbazillen zu finden. 4 Hunde gleicher Rasse und gleichen Alters erhielten Injektionen von je einer ganzen Kultur auf Serum und zwar 2 Hunde menschlicher und 2 Hunde Rindertuberkelbazillen. Die Hunde erkrankten alle mit enormem Ascites. Zwei gingen zugrunde, der eine war mit menschlicher, der andere mit Rindertuberkelbazillen behandelt. Die beiden Tiere hatten eine Tuberkulose des Netzes mit großen Massen von Tuberkelbazillen darin. Die anderen beiden Hunde erholten sich; der Ascites verschwand. Die Tiere waren nachher vollkommen munter und gesund und blieben vollkommen frei von Tuberkulose. Der Versuch hatte nicht das Resultat ergeben, das ich erwartet hatte. Später habe ich von der Annahme ausgehend, daß die Rindertuberkelbazillen wie für viele andere Tiere so auch für Hunde virulenter sein würden wie die menschlichen Tuberkelbazillen, noch einige Hunde intraperitoneal mit Rindertuberkelbazillen behandelt und zwar mit je einer ganzen Serumkultur. Die Hunde sind danach nur vorübergehend krank gewesen und haben später keine Spur von Tuberkulose gezeigt. Vielleicht spielt die Virulenz der Kulturen bei diesen Versuchen eine Rolle. Jedenfalls sind die Versuche des Herrn Bongert von größtem Interesse. Sie müssen von möglichst vielen Seiten wiederholt werden. Es wird sich ja dann ergeben, ob in der Tat, bei Anwendung bestimmter Mengen und bei intraperitonealer Injektion der Tuberkelbazillen, der Hund für die Differentialdiagnose von humanen und bovinen Stämmen sich brauchbar erweisen wird.

Zum färberischen Nachweise der Tuberkelbazillen sind in den letzten Jahren eine ganze Anzahl von sog. „Anreicherungsverfahren“ angegeben worden, die bei dem Vorhandensein spärlicher Tuberkelbazillen in dem tuberkulösen Material von großer praktischer Bedeutung sind. Hauptsächlich handelte es sich um den Nachweis der Tuberkelbazillen in Sputen von tuberkuloseverdächtigen Individuen. Das Prinzip dieser Anreicherungsmethoden ist das, daß das Sputum durch Zusatz eines Alkalis verflüssigt wird, und daß aus diesem verflüssigten Sputum die Tuberkelbazillen durch Absetzenlassen oder durch Zentrifugieren gewonnen werden. Als das beste Mittel zur Auflösung der tuberkulösen Materialien hat sich bewährt das von Uhlenhuth in die Untersuchungstechnik eingeführte Antiformin. Aus den Antiforminlösungen können durch längeres, etwa einstündiges Zentrifugieren mit einer kräftigen Zentrifuge die Tuberkelbazillen als Bodensatz abgeschieden werden. Zur Beschleunigung und Erleichterung des Abscheidens der Tuberkelbazillen hat man Zusätze von Alkohohl, Aether und von Ligroin angewendet. Besonders das Ligroin ist sehr empfohlen, weil es als spezifisch leichter Körper die in der verflüssigten Masse enthaltenen Tuberkelbazillen in die Höhe reißt. Dem bisherigen Verfahren haften gewisse Nachteile an. Entweder sie dauern zu lange, oder sie erfordern eine Zentrifuge mit hoher Umdrehungszahl oder aber sie gestatten nicht die in einem tuberkulösen Material vorhandenen Tuberkelbazillen so zusammenzubringen, daß sie mit Leichtigkeit auf ein Deckglas oder einen Objektträger gebracht und untersucht werden können. Ich habe mich bemüht ein neues Verfahren auszuarbeiten, das diese Nachteile nicht bietet und bin nach vielen Untersuchungen, auf deren Details ich an dieser Stelle nicht eingehe, zu folgendem Verfahren gelangt. Eine gewisse Menge Sputum 1, 5, 10, 20 ccm, wird abgemessen, in einen Kolben aus Jenaer Glas gebracht, mit der gleichen Menge 50proz. Antiformins versetzt und über der Flamme aufgekocht. Die Lösung erfolgt sofort unter leichter Bräunung der Flüssigkeit. Zu 10 ccm der Lösung werden hinzugesetzt 1,5 ccm einer Mischung von 10 Volumteilen Chloroform und 90 Volumteilen Alkohol. Nach tüchtigem Durchschütteln, am besten in einer mit Patentverschluß versehenen Flasche wird die Flüssigkeit in Zentrifugenröhrchen gebracht und 15 Minuten zentrifugiert. Es bildet sich dann eine Scheibe des auszentrifugierten Materials in der Spitze des Zentrifugenröhrchens oberhalb des die Spitze ausfüllenden Chloroforms. Die Flüssigkeit wird abgegossen, die Scheibe in toto herausgenommen und auf einen Objektträger gebracht. Nach Absaugen des derselben anhängenden Flüssigkeitsrestes mit Filtrierpapier wird die Scheibe unter Zusatz eines Tropfen Hühnereiweißes, dem zur Konservierung 0,55 Proz. Karbol zugesetzt wird, mit einem zweiten Objektträger verrieben und durch Abziehen dieses Objektträgers fein ausge-



strichen. Darauf läßt man die Schicht lufttrocken werden und fixiert sie, indem man den Objektträger mehrere Male durch die Flamme zieht. Nunmehr erfolgt die Färbung mit Karbolfuchsin unter Erhitzung bis zur Blasenbildung auf dem Objektträger, Nachbehandeln mit 3 proz. Salzsäurealkohol, Abspülen mit Wasser, Uebergießen mit einer 0,1 proz. wässerigen Lösung von Malachitgrün chemisch rein Chlorzinkdoppelsalz (Hoechst) und Abspülen mit Wasser. Nachdem das Präparat trocken geworden, wird es mit der Oelimmersion direkt untersucht. Das Chloroform hat eine besondere Affinität zu den fett- und wachsartigen Stoffen, wie sie in den Tuberkelbazillen enthalten sind. Diese beladen sich mit dem Chloroform; dessen hohes spezifisches Gewicht — 1,489 — außerordentlich sein Auszentrifugieren erleichtert. Deshalb bedarf es nur eines etwa 15 Minuten währenden Zentrifugierens mit einer Zentrifuge von 1500—2000 Umdrehungen, um es aus der Flüssigkeit auszuschleudern. Gelöst bleibt nur eine minimale Menge Chloroform, da es im Wasser nur zu 0,07 Proz. löslich ist. Die Anwendung in alkoholischer Lösung geschieht deshalb, weil bei Anwesenheit gewisser Mengen von Alkohol in einer Flüssigkeit die Emulsionierung des Chloroforms eine sehr viel feinere ist als in einer alkoholfreien Flüssigkeit. Statt des Chloroforms läßt sich auch Chlorkohlenstoff anwenden, dessen spezifisches Gewicht — 1,601 — noch höher ist als das des Chloroforms. Gleichwohl habe ich mich aus verschiedenen Gründen für das Chloroform entschieden. Das neue Verfahren hat sehr befriedigende Ergebnisse geliefert. Ich kann es daher als ein sicher und schnell arbeitendes und dabei sehr einfaches und vollkommen ungefährliches Verfahren den Herrn Kollegen zum Nachweise der Tuberkelbazillen empfehlen.

Petruschky (Danzig): Ich habe mich zum Wort gemeldet, um zunächst in der „Immunitätsfrage“ den gleichen Standpunkt zu vertreten, dem inzwischen Herr Pfeiffer-Breslau schon Ausdruck gegeben hat. Wie kann man von „Immunität“ gegen eine Krankheit sprechen, an der der befallene Körper noch leidet, an der er später — wie das tuberkulöse Meerschwein — sicher zugrunde geht. Es liegt hier offenbar eine besondere Form der Gewebsresistenz vor, die während des Zustandes der Durchseuchung bei Tuberkulose und Syphilis besteht, also eine **„Durchseuchungsresistenz“**, die wir mit der bei anderen Krankheiten beobachteten echten „Immunität“ nicht in einen Topf werfen dürfen. Sie hält, wie Herr Römer sehr schön gezeigt hat, auch nur mäßigen Reinfektionsdosen stand und verschwindet nach der Heilung im vollen Gegensatz zur echten Immunität.

Ueber die diagnostischen Proben beim Rinde hat Schütz-Berlin auf der Wiesbadener Tagung der Internisten sehr skeptisch referiert; auch über Römers Intrakutanimpfung; ich habe ihm den Versuch empfohlen, flache Kutanimpfungen mit unverdünntem Tuberkulin auf die unbehaarte Innenfläche des Ohres zu versuchen, die sich mir bei Kaninchen sehr brauchbar erwiesen hat und bei Rindern meines Wissens noch nicht versucht ist.

Die Frage der Wandelbarkeit der Tuberkelbazillentypen durch Tierpassagen bei anderen Tierarten ist von großem theoretischen Interesse. Die seinerzeit etwas schroffe Stellungnahme R. Kochs in der Trennung der Typen überraschte mich, nachdem ich kurz zuvor unter Kochs persönlicher Leitung die Anpassung der Streptokokkenstämme an neue Tierspezies durch Passagen und den völligen Verlust der ursprünglich vorhandenen Menschenpathogenität bei maximaler Pathogenität für Kaninchen oder Maus hatte nachweisen können. Auch bei dem Tuberkelbazillus liegt doch die Auffassung nahe, daß ein Urstamm sich durch Anpassung an verschiedene Tierarten allmählich in verschiedene Typen zerlegt hat, allerdings wohl bereits in grauer Vorzeit. Immerhin könnte eine gewisse Anpassungsfähigkeit bewahrt geblieben sein.

Reichenbach (Bonn): Die Ausführungen von Herrn Titze haben mich vollständig befriedigt. Ich möchte zwar glauben, ebenso wie Herr Geheimrat Pfeiffer, daß für die Infektion des Kalbes noch andere Erklärungsmöglichkeiten vorliegen; wenn Herr Titze aber meint, daß das Tier wirklich die nötigen 100 mg Tuberkelbazillen geschluckt hat, so habe ich auch gegen diese Annahme nichts einzuwenden. Ich wollte nur dem entgegentreten, daß aus den Ausführungen des Herrn Titze der Schluß gezogen würde, es habe hier eine intestinale Infektion mit kleinen Mengen von Tuberkelbazillen vorgelegen.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Ich bin auch der Ansicht, daß es eine echte Immunität gegen Tuberkulose nicht gibt und habe diese Ansicht auch bereits in Bergen auf der II. internationalen Leprakonferenz 1909 (s. Verhandl. der II. inter-



nationalen Leprakonferenz „Lepra", Vol. XI, 1910) gelegentlich der Diskussion zum Ausdruck gebracht. Wenigstens ist das keine Immunität, mit der man für die Praxis rechnen könnte. Das beweisen die im Gesundheitsamt ausgeführten Versuche, die z. T. auch in Mecklenburg auf den dortigen Gütern vorgenommen sind. Inhalationsversuche sind, wie ich Herrn Reichenbach gegenüber bemerken möchte, auch im Kaiserl. Gesundheitsamt zur Prüfung auf Immunität angestellt worden. Es ist aber wohl eine erhöhte Resistenz zu beobachten. Ich glaube, daß der Vergleich mit der Syphilis nicht schlecht ist, auch bei dieser Krankheit gibt es keine echte Immunität.

Im Anschluß an die Bemerkungen von Geh.-Rat Loeffler möchte ich hervorheben, daß ich es für außerordentlich wichtig halte, eine geeignete Methode auszuarbeiten, um die offene Lungentuberkulose der Rinder genau wie beim Menschen frühzeitig zu erkennen. Denn das Sputum (Tröpfcheninfektion) spielt meiner Meinung nach die Hauptrolle bei der Verbreitung der Tuberkulose der Rinder — nicht der tuberkelbazillenhaltige Kot. Es läßt sich, wie ich bereits in der Hufelandschen Gesellschaft vom 10. Februar 1910 (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 10 betont habe, meine Antiforminmethode für diese Zwecke sehr gut verwerten. Um das Sputum zu sammeln, habe ich Herrn Dr. Schern veranlaßt, eine Maske zu konstruieren; die Tiere husten gegen ein gebogenes Kupferblech, an dem sich ein Rezeptakulum für den herabfließenden Auswurf befindet. Auf diese Weise erhält man ausreichendes Untersuchungsmaterial. Auch für die Untersuchung der Milch auf Tuberkelbazillen haben wir die Antiforminmethode modifiziert. Um sie gut zu homogenisieren, verwenden wir 5 ccm Milch + 5 ccm Alkohol + 5 ccm Aether + 10 ccm einer 25proz. Antiforminlösung, dann gibt man 25 ccm Kochsalzlösung dazu und zentrifugiert 1/2 Stunde. Mischen des Bodensatzes und Verarbeiten. Diese Methode hat auch für den Tierversuch Vorteile, da die Begleitbakterien ausgeschaltet werden. Ich habe bereits in meiner I. Arbeit (Freie Vereinigung für Mikrobiologie 1908. Centralbl. f. Bakt., Bd. XLII, Ref.) auf die Verwertbarkeit des Antiformins für die Untersuchung von Milch und Milchprodukten hingewiesen.

Bongert (Berlin) [Erwiderung auf die Diskussionsbemerkung von Herrn Geheimrat Dr. Pfeiffer]: Durch die Taubenpassage erfahren die Rindertuberkelbazillen morphologisch und kulturell und auch in ihrem pathogenen Vermögen eine auffallende Abänderung, wodurch sie dem *Typus avium* ähnlich werden. Ob nun die durch Taubenpassage abgeänderten Rindertuberkelbazillenstämme auch in enzootischer Beziehung zu echten Geflügeltuberkelbazillenstämmen geworden sind, ist weiteren Untersuchungen festzustellen vorbehalten. Ich glaube aber auf Grund meiner Versuchsergebnisse, die zu meiner Freude durch Herrn Zwick bestätigt worden sind, behaupten zu können, daß entgegen der bisherigen Ansicht die Rindertuberkulose auf das Geflügel übertragbar ist. Meine Herren! Prüfen Sie meine Versuche nach und benutzen Sie den von mir angegebenen Infektionsmodus, so werden auch Sie positive Ergebnisse zu verzeichnen haben.

Zum Schluß möchte ich auf die Mitteilungen von Herrn Sticker erwähnen, daß ich Tuberkuloseübertragungsversuche bei Hunden in größerem Maßstabe ausgeführt habe. In Uebereinstimmungen mit den früheren Experimentatoren habe ich feststellen können, daß Hunde wenig empfänglich für eine tuberkulöse Infektion sind. Mit Sicherheit lassen sie sich nur durch eine intravenöse Injektion mit einer massiven Tuberkelbazillendosis töten, einer ebensolchen subkutanen und auch intraperitonealen Infektion widerstehen sie meist. Nach einmaliger überstandener Tuberkelbazilleninfektion vertragen Hunde große Dosen Tuberkelbazillen auch intravenös. Es gelingt dann meistens nicht, die Tiere tuberkulös zu machen oder durch eine große Dosis Tuberkelbazillen zu töten.

Ich möchte daher gerade den Hund als Versuchstier bei den Studien der tuberkulösen Reinfektion empfehlen und das um so mehr, da bei Hunden spontan und experimentell Hauttuberkulose in Gestalt eines geschwürigen, pustulösen Exanthems zur Entwicklung gelangt, das den Verlauf des Immunisierungsvorganges zu beobachten gestattet.

Römer (Marburg): Zu der Diskussionsbemerkung des Herrn Reichenbach möchte ich hinzufügen, daß auch ich eine Ergänzung der Prüfung der Immunität tuberkulöser Tiere durch Inhalation für erwünscht halte. Wir haben entsprechende Versuche nicht nur gegenüber Inhalation, sondern auch gegenüber Verfütterung von Tuberkelbazillen in Marburg begonnen.

Herrn Petruschky mache ich darauf aufmerksam, daß Tuberkulinbehandlung



großer tuberkulöser Tiere (Rinder) bereits vor langen Jahren von v. Behring ausgeführt wurde. v. Behring hat in seiner „Allgemeinen Therapie der Infektionskrankheiten" summarisch darüber berichtet.

Herrn Kraus möchte ich erwidern, daß ich einen strikten Beweis für den kausalen Zusammenhang zwischen Tuberkuloseimmunität und Ueberempfindlichkeitsreaktion nicht besitze und darauf in meinen Publikationen auch stets aufmerksam gemacht habe. Ich habe lediglich bisher ausnahmslos das Nebeneinanderbestehen von Ueberempfindlichkeitsreaktion und Tuberkuloseimmunität beobachtet, vorausgesetzt, daß die zur Reinfektion benutzte Tuberkelbazillendosis ausreichte, um eine sinnfällige Ueberempfindlichkeitsreaktion zu verursachen. Calmette geht sogar so weit, in der Stärke der Ueberempfindlichkeitsreaktion einen Gradmesser der Tuberkuloseimmunität zu sehen.

Was endlich den Vorschlag des Herrn Pfeiffer betrifft, die erhöhte Widerstandsfähigkeit tuberkulöser Individuen nicht als Immunität zu bezeichnen, so halte ich diesen Vorschlag für diskussionsfähig, denn mancherlei liegt bei der Tuberkuloseimmunität recht eigenartig und unterscheidet sie von den uns bekannten Immunitätsformen. Ob es aber angängig ist, die Anwendung des Begriffes Immunität von den Ursachen des spezifisch erzeugten Schutzes abhängig zu machen, erscheint mir doch fraglich. Um hier zu einer Einigung zu kommen, wäre eine längere begriffliche Auseinandersetzung nötig, für die es wohl hier an Zeit mangelt. Ich selbst habe begreiflicherweise über diese Frage schon viel nachgedacht, sie auch schon in meinen Publikationen diskutiert, bin aber doch immer wieder darauf zurückgekommen, von Tuberkuloseimmunität zu sprechen, wenn ich spezifisch vorbehandelte Tiere mit so deutlich erhöhter Widerstandsfähigkeit behaftet finde. Denn wenn, wie in meinen geschilderten Versuchen z. B., Schafe ohne Schaden Dosen des reinfizierenden Virus vertragen, die Kontrollschafe in 4 Wochen töten, so ist das jedenfalls praktisch ein ganz gewaltiger Tuberkuloseschutz. Ob theoretische Bedürfnisse also jemals dazu zwingen werden, diesen praktisch sicher sehr bedeutsamen Tuberkuloseschutz nicht als Immunität zu definieren, lasse ich vorläufig dahingestellt.

Außerdem: Kraus (Wien), Hahn (München).

VI. Zwick (Groß-Lichterfelde)

demonstriert eine Reihe von Projektionsbildern, die sich auf natürliche und künstlich erzeugte Fälle von Beschälseuche beim Pferd, Schaf, Hund, der Katze und des Kaninchens, sowie auf Beschälseuche- und Dourinetrypanosomen, die er für identisch hält, beziehen. Er bemerkt u. a., daß es ihm und Fischer gelungen sei, Trypanosomen in der Milch einer mit Beschälseuche infizierten Stute und in den Föten einer infizierten trächtigen Ratte nachzuweisen.



VII. Haendel und Böing (Groß-Lichterfelde)

demonstrierten Präparate von roten Blutkörperchen und Blutschatten in flüssiger Tusche und nach Behandlung mit Methylviolett (vgl. Deutsche militärärztl. Wochenschr. 1910. Nr. 6. Vereinsbeilage u. Fol. Haematol. Bd. 9. H. 4).

VIII. Schellack (Groß-Lichterfelde)

demonstriert Präparate verschiedener Spirochätenarten aus Süßwaßermuscheln, Meermuscheln, pathogene und freilebende Formen und solche aus dem Darm von Stomoxyslarven. An der *Spirochaete plicatilis* und anderen freilebenden Formen wird die sogenannte undulierende Membran gezeigt. Hauptsächlich soll die bei verschiedenen Spezies verschiedene Art der Querteilung demonstriert werden (nach Untersuchungen im Kaiserlichen Gesundheitsamt).

IX. E. Reichenow (Groß-Lichterfelde)

demonstriert Präparate von *Haemogregarina stepanowi*, und zwar die wichtigsten Stadien der ungeschlechtlichen Entwicklung in der Sumpfschildkröte (*Emys orbicularis*), sowie die der geschlechtlichen Entwicklung in dem Rüsselegel *Placobdella catenigera* (nach im Kaiserlichen Gesundheitsamt ausgeführten Untersuchungen).

Heymann (Breslau) demonstriert Trachomkörperchen und ähnliche Befunde (cf. Diskussion zu den Referaten über Chlamydozoen S. 120).



X. Selter (Bonn):

Das Dysenterietoxin.[1])

Die Dysenteriebazillen erzeugen ein für Kaninchen gefährliches Gift, welches schon durch die Erscheinungen, die es hervorruft und seine Hitzeempfindlichkeit gut gekennzeichnet ist. Dieses Kaninchengift wird am einfachsten durch 2stündiges Ausziehen frischer Agarkulturen mit Kochsalzlösung bei 60° gewonnen; es muß als ein Endotoxin bezeichnet werden, das aber immunisiert und Immunkörperbildung auslöst. Auch die Wirkung der lebenden Bazillen beruht auf diesem Kaninchengift, da die lebenden Bazillen im Kaninchenkörper ohne Vermehrung zugrunde gehen. Das Antitoxin wirkt am sichersten und in proportionalen Mengen mit dem Gift bei Vermischung mit dem gelösten Gift, bindet sich zwar auch an die noch gifthaltigen Bazillenleiber, aber ohne diese zu entgiften. Da wir mit abgetöteten Bazillenleibern arbeiteten, ist es möglich, daß die Bazillenleiber durch die Erhitzung für das Antitoxin weniger zugänglich werden. Pfeiffer und Ungermann erhielten bei Vermischung des Dysenterieserums von Kraus und Dörr mit abgegetöteten Bazillen ebenfalls keine Entgiftung. Die widersprechenden Resultate von Bächer und Laub sind vielleicht dadurch zu erklären, daß diese Forscher lebende Bazillen benutzten.

Die verschiedenen Dysenteriestämme sind in ihrer Giftwirkung für das Kaninchen nicht gleich. Bemerkenswert ist, daß der giftigste Stamm Kral für Meerschweinchen fast gar nicht wirksam war.

Die Pseudodyssenteriebazillen erzeugen ein für Kaninchen gefährliches nur ausnahmsweise.

Das Kaninchengift ist für Meerschweinchen unwirksam. Dagegen werden diese Tiere durch Auszüge der Bazillenleiber und diese selbst unter den Erscheinungen der gewöhnlichen Endotoxinvergiftung getötet. Die Prüfung mittels des Immunserums zeigt, daß wahrscheinlich zwei Meerschweinchengifte der Dysenteriebazillen zu unterscheiden sind, ein leichter lösliches, das durch Immunserum nicht beeinflußt wird, und ein fester den Bazillenleibern anhaftendes (Endotoxin im engeren Sinne), das vom Immunserum in gewissen Grenzen entgiftet wird. Beide Gifte sind recht hitzebeständig. Während das Kaninchengift beim Kochen schnell vernichtet wird und nach 10 minutenlangem Kochen schon 160 tödliche Dosen erforderlich sind, um den Tod des Kaninchens herbeizuführen, verlieren die Meerschweinchengifte dadurch nur etwa die Hälfte ihrer Wirksamkeit. Die Pseudodysenteriebazillen liefern ein für Meerschweinchen fast gleiches Gift wie die echten Dysenteriebazillen.

Die bei Hunden nach Injektion lebender oder abgetöteter Dysenteriekulturen und ihrer Extrakte auftretende Vergiftung, die namentlich durch hämorrhagische Enteritis sich kennzeichnet, ist nicht auf Rechnung eines

---

[1]) Die ausführliche Arbeit ist in der Zeitschrift für Immunitätsforschung erschienen.



spezifischen Dysenteriegiftes zu setzen, denn sie teilt diese Merkmale mit zahlreichen anderen Bakterienvergiftungen, z. B. auch mit der putriden Intoxikation (Sepsinvergiftung). Die Darmerscheinungen beim Hunde haben mit der Wirkung lebender Dysenteriebazillen nichts zu tun, wie es Vaillard und Dopter annahmen. Vom Magendarmkanal aus gelingt es nicht, die Hunde mit lebenden Bakterien zu infizieren oder die Darmerscheinungen zu erzeugen. Bei lebender Infektion sind die Bakterien wohl in den Organen, dagegen nicht auf der Darmschleimhaut nachzuweisen. Ob das Dysenterieimmunserum auch eine antitoxische Wirkung gegenüber dem Hundegift entfaltet, ist noch nicht sicher zu sagen.

Für die Dysenterievergiftung des Menschen müssen wir den von Kruse aufgestellten Satz, daß die bazilläre Dysenterie des Menschen eine echte, durch starke Vermehrung der Dysenterie- oder Pseudodysenteriebazillen in und auf der Darmschleimhaut hervorgerufene Infektion sei, auch heute noch aufrecht halten. Die bei der Dysenterie des Menschen auftretenden allgemeinen Störungen wird man zum Teil als Vergiftung aufzufassen haben, während sie zum anderen Teil durch die örtlichen Veränderungen erklärt werden. Die hochgradige Entkräftung und Abmagerung beobachten wir auch bei den mit Dysenteriebazillen infizierten oder vergifteten Meerschweinchen. Dagegen treten niemals Lähmungen bei Dysenterie des Menschen auf, wie sie für die Erkrankung der Kaninchen so überaus typisch sind. Auch für die Erklärung der Darmerscheinungen des Menschen brauchen wir das für das Kaninchen wirksame Gift nicht, wenngleich es ja nahe läge, hier eine eventuell vorhandene hämorrhagische Giftkomponente heranzuziehen. Die Darmerscheinungen des Menschen sind aber im Gegensatz zum Kaninchen durch die Wucherung der Dysenteriebazillen und deren entzündungserregende Wirkung verursacht. Sodann bilden die Pseudodysenteriebazillen, die beim Menschen doch genau dieselben Veränderungen hervorrufen, wie die echten, kein Dysenteriegift. Wir müssen also annehmen, daß für die Dysenterie des Menschen nicht das Kaninchengift, sondern die Meerschweinchengifte in Frage kommen. Die Heil- und Schutzkraft des Dysenterieimmunserums gegenüber der Dysenterie des Menschen erklärt sich danach außer durch seine antiinfektiösen Leistungen vielleicht durch seine antitoxischen Wirkungen auf das schwer lösliche Meerschweinchengift, während die Antitoxine gegen das Kaninchengift anscheinend ohne Bedeutung für die Serumtherapie des Menschen sind.

Diskussion:

R. Kraus (Wien): Auch aus den Versuchen Selters geht hervor, daß das Dysenteriegift als Toxin charakterisiert werden kann, da die damit gewonnenen Antitoxine die Toxine in vitro und in vivo neutralisieren.

Bezüglich der bereits von Pfeiffer und Ungermann mitgeteilten Versuche über die Neutralisierbarkeit von Kulturen in vitro wäre folgendes zu sagen. Baecher und Laub gelang es nicht, die Versuche Pfeiffers zu bestätigen. Wovon diese Differenz abhängt, können wir nicht entscheiden. Die negativen Resultate Selters dürften aus den geringen angewandten Serummengen zu erklären sein. Im übrigen selbst wenn die Unmöglichkeit der Neutralisierbarkeit in vitro sich als richtig erweisen sollte, könnte man diesen Versuchen die prinzipielle Bedeutung, wie Pfeiffer es tat, nicht zusprechen; haben wir doch gezeigt, daß auch infizierte Tiere mittels Antitoxin geheilt werden können. Das wichtigste ist doch, daß das antitoxische Dysenterieserum auf die Shiga-Kruse-Dysenterie des Menschen einen sehr günstigen Einfluß hat.



R. Pfeiffer (Breslau): Meine Herren! Was das Dysenterietoxin anbetrifft, so sehe ich mich nach meinen Versuchen gezwungen, in den Bakterienleibern mindestens zwei verschiedene Giftkomponenten anzunehmen, ein paretisches Gift, welches nur den Shiga-Kruseschen Bazillen zukommt und eine ganz spezifische Toxizität für den Kaninchenkörper zeigt, während das Meerschweinchen und auch der Mensch dagegen unempfindlich zu sein scheinen, und ein zweites Gift, das Fieber resp. Temperatursturz und allgemeinen Marasmus hervorbringt, und welchen ich deshalb kurz als marantisches Gift bezeichnen möchte. Das paretische Gift wird, dem Gesetz der Multipla folgend, durch das Ruhrserum neutralisiert; gegen das marantische Gift dagegen gibt es keine antitoxische Serumkomponente. Das Studium des Ruhrserums, das ich in Gemeinschaft mit Ungermann und Bessau ausgeführt habe, hat nun einige sehr interessante Tatsachen ergeben, die mit Unrecht von Kraus und seinen Schülern bestritten worden sind, und die ich nach nochmaliger sorgfältiger Nachprüfung absolut aufrecht erhalten muß. Das paretische Gift wird nämlich nur im Tierkörper bei direkter Mischung mit dem Serum entgiftet; im Reagenzglas kann man Bakterien und Serum bis zu 20 Stunden unter fortdauerndem Schütteln bei Brutschranktemperatur zusammen lassen, ohne daß die abzentrifugierten und mehrfach gewaschenen Bazillen ihre spezifische kaninchenlähmende Wirkung verlieren. Das Antitoxin dringt also nicht in die Bakterienzellen ein, was um so merkwürdiger ist, als andere Antikörper, Agglutinine, Bakteriolysine, auf das rapideste von Bakterien gebunden werden. Ich muß auch gegen Selter mich aussprechen, der die Unangreifbarkeit des paretischen Giftes durch das Ruhrserum im Reagenzglasversuch bestätigt, trotzdem aber gefunden haben will, daß die entsprechenden Antikörper an die Bakterienzellen sich binden. Selbst durch sehr große mehrmals wiederholte Einsaaten abgetöteter Ruhrbazillen in Ruhrserum ist es uns nicht gelungen, die antitoxische gegen das paretische Gift wirksame Komponente herauszuziehen. Bei den Ruhrbakterien haben wir zum erstenmal die Möglichkeit, die gegenseitigen Beziehungen eines Antitoxins zu seinem Toxin genauer zu analysieren, da hier dieses Toxin in korpuskulärer leicht abtrennbarer Form gegeben ist, und hier sehen wir, ich darf wohl sagen, unerwarteterweise, daß eine gegenseitige Beeinflussung außerhalb des Tierkörpers fehlt, während sie im Tierkörper gesetzmäßig und leicht zustande kommt. Ich halte es für sehr wohl möglich, daß solche Studien zu einer Vervollständigung unserer bisherigen vielleicht etwas schematischen Vorstellungen über die Beziehungen von Toxin und Antitoxin führen könnten. Wenn Herr Kraus unseren Beobachtungen die Bedeutung absprechen will, so ist dies Geschmacksache, ich möchte sie für prinzipiell wichtig erklären. Herr Kraus bezieht sich auf eine Arbeit von Weil über das Verhalten von Diphtherieserum gegenüber den Diphtheriebazillen. Auch hier soll das in den Bazillen enthaltene Gift im Reagenzglase durch das Serum nicht neutralisiert werden. Herr Kraus hat jedoch die Weilsche Arbeit falsch aufgefaßt. Weil hat gewaschene toxinfreie Diphtheriebazillen benutzt, und natürlich, was a priori vorauszusetzen war, gefunden, daß der antitoxische Wert des Serums durch Ausschütteln mit derartig toxinfreien Bazillen nicht verändert wurde. Zum Nachdenken regt auch die Tatsache an, daß die antitoxische Wirkung des Ruhrserums auffälligerweise nur beobachtet wird, wenn das Serum vor der Giftinjektion injiziert wird, oder wenn Mischungen von Dysenteriebazillen und Serum verabfolgt werden. Injiziert man Gift und Serum getrennt gleichzeitig in die Ohrvene beider Ohren, so tritt eine Entgiftung nicht ein; ebenso fehlt eine solche, wenn auch nur 5 Minuten nach der intravenösen Einspritzung einer Oese abgetöteter Dysenteriebazillen in dieselbe Vene größere Serumquantitäten nachinjiziert werden. Dieses Verhalten ist nicht ganz leicht verständlich, da es sich ja nicht um ein gelöstes Gift handelt, was sofort in den empfindlichen Zellen verankert werden könnte, sondern um giftige Bazillen, deren bakteriolytische Zerstörung im Tierkörper der Giftwirkung vorausgehen muß, was doch wohl einige Zeit in Anspruch nehmen dürfte. Auch diese Beobachtungen scheinen mir dafür zu sprechen, daß die gegenseitigen Beziehungen des paretischen Ruhrgiftes zu seinem Antitoxin noch weiterer Untersuchungen bedürfen.

Herr Kraus hat in seiner Bemerkung die Menschenversuche Ungermanns nicht berücksichtigt, aus denen hervorgeht, daß die für Menschen in Betracht kommenden entzündungs- und fiebererregenden Wirkungen der Dysenteriebazillen durch das Serum nicht neutralisiert werden. Der Wert dieser Versuche wird keineswegs durch die Auffassung Kraus' beeinträchtigt, daß hier „Bakterienproteine" für diesen Versuchsausfall verantwortlich zu machen seien. Diese Bakterienproteine müssen selbstverständlich bei einer Infektion, wo die Bakterien in die Schleimhaut und sogar bis in die regionären Lymphdrüsen hineingelangen, und dort zugrunde gehen, ebenfalls eine Rolle spielen. Sie sind meiner Annahme nach identisch mit den von mir als marantisches Gift bezeichneten Bakterienbestandteilen. Wenn das Dysenterieserum bei der menschlichen



Ruhr nützlich ist, so ist der Erfolg unzweifelhaft nicht auf die für den Menschen kaum in Betracht kommende antitoxische Komponente, sondern auf antiinfektiöse Eigenschaften zu beziehen, wie ich schon mehrfach hervorgehoben habe.

Selter (Bonn) Schlußwort:

Aus dem Auftreten des Giftes in Bouillonkulturen kann nicht gefolgert werden, daß es sich um ein echtes Toxin handeln müsse. Das Gift tritt erst relativ spät und vorzugsweise in stark alkalischen Kulturen auf. Durch Zählversuche konnten wir aber nachweisen, daß die Dysenteriebazillen in alkalischer sich etwa dreimal so stark entwickeln als in gewöhnlicher Bouillon, und daß nach 10 Tagen die Bakterienzahlen plötzlich bedeutend herunterfallen. Man kann deshalb geradesogut annehmen, daß das Gift durch Zerfall der Bakterienleiber frei wird, und daß aus dem stärkeren Wachstum in alkalischer Bouillon auch die stärkere Giftbildung erklärt wird.

Wenn Herr Professor Kolle glaubt, daß man eine Trennung in Kaninchen- und Meerschweinchengift nicht nötig habe, sondern daß es ein und dasselbe Gift sei, dessen Wirkung nur bei den verschiedenen Tierarten eine andere sei, so steht dem doch die verschiedene Resistenz der beiden Gifte gegen höhere Temperaturen entgegen. Die für das Kaninchengift so charakteristische paretische Komponente geht beim Erhitzen schnell verloren, dagegen verträgt die marantische Komponente der Meerschweinchengifte selbst längeres Kochen.

Außerdem: Kolle (Bern), Hahn (München).

XI. Uhlenhuth und Mulzer (Groß-Lichterfelde):

Ueber experimentelle Kaninchensyphilis.[1])

Meine Herren! Auf der vorjährigen Veesammlung in Wien haben wir über einige Ergebnisse berichtet, die wir bei unseren experimentellen Syphilisstudien erhalten hatten. Wir haben diese Untersuchungen fortgesetzt und sind heute in der Lage, jene Mitteilungen zu ergänzen und zu erweitern.

Da es sich im Laufe unserer Arbeit herausgestellt hatte, daß das Kaninchen für derartige Untersuchungen geeigneter ist als andere Versuchstiere, einschließlich der niederen Affen, so haben wir uns bald fast ausschließlich darauf beschränkt, das syphilitische Virus auf Kaninchen zu übertragen. Im Vordergrund unserer bisherigen Untersuchungen stand die Verimpfung menschlichen bzw. tierischen Materials in die Hoden von Kaninchen und die Weiterimpfung der so erhaltenen Impfprodukte auf neue Tiere und zwar in erster Linie wieder in die Hoden derselben.

Unsere Impftechnik ist in Kürze angegeben folgende: Menschliches spirochätenhaltiges Saugserum, aus möglichst frischen und unbehandelten Primäraffekten oder nässenden Papeln mittels des Schuberg-Mulzerschen Saugers gewonnen wird mit feinen Glaskapillaren direkt in die Hodensubstanz oder unter die Skrotalhaut eingeblasen. Tierisches Virus

---

Siehe auch Berl. klin. Wochenschrift. 1910. No. 25. S. 1169.



wird, in kleine Stückchen zerschnitten, mittels eines Troikarts in die zu impfenden Organe eingeführt.

Wie Ihnen eine nach Art eines Stammbaumes angelegte Tabelle zeigen wird, ist es uns gelungen, bereits die VIII. Kaninchenhodenpassage von tierischem Virus zu erzielen. Das Ausgangsmaterial entstammt einer syphilitischen Kaninchenkornea der von uns erreichten XX. Passage (Bertarellivirus). Wie aus dem Stammbaum ersichtlich, ist die Virulenz des Materials von Passage zu Passage deutlich gestiegen. Während wir in der I. und II. Passage nur 8 Proz. bzw. 25 Proz. positive Impferfolge zu verzeichnen hatten, konnten wir in der V. und VI. Passage bereits 75 Proz. bzw. 85 Proz. erhalten. Auch die Inkubationszeit, die anfänglich 8—10—12 Wochen betrug, verkürzte sich auffallend in den höheren Passagen. So konnten wir bei einem derartigen Tier bereits 4 Wochen nach der Impfung eine gut ausgebildete typische Hodenerkrankung feststellen.

Das klinische Bild, unter dem diese experimentell erzeugten Hodenerkrankungen der Kaninchen verlaufen, tritt, wie wir feststellen konnten, in drei Krankheitsformen in Erscheinung:

1. In Form eines Geschwürs auf der Skrotalhaut, das durchaus nicht immer an der Eintrittsstelle lokalisiert ist. Der Hoden und Nebenhoden ist hier meist vollkommen intakt. Das Geschwür selbst erscheint entweder als flache, uncharakteristische, mit einer trockenen Borke bedeckte Ulzeration oder Erosion und kann nur durch den Nachweis der *Spirochaete pallida* als syphilitische Erkrankung sichergestellt werden, oder es entspricht mehr oder weniger dem menschlichen Primäraffekt, insbesondere dem an der Vorhaut lokalisierten. Dann zeichnet es sich aus durch rundliche oder ovale Form mit steilen Rändern und wallartig verdickter derber Umgebung. In dieser derben Indurationszone findet man dann besonders zahlreich die *Spirochaete pallida*. Letztere Krankheitsprodukte pflegen in 2—3 Wochen, meist mit Hinterlassung einer weißlichen Narbe abzuheilen, während erstere, die Erosionen, in der Regel schon nach 5—8 Tagen ohne weiteres spontan verschwinden.

2. In Form einer chronischen Hodenentzündung bei intakter Skrotalhaut. Auch hier lassen sich wieder zwei verschiedene Arten der Erkrankung feststellen. Entweder vergrößert sich nach einer mehr oder weniger langen Inkubationszeit der Hoden und auch in geringem Grade der Nebenhoden langsam gleichmäßig, bis oft auf das Doppelte seiner ursprünglichen Größe, wird mehr rundlich oval, von derber, prall elastischer Konsistenz und ist nicht mehr durch den Leistenkanal zurückzuschieben — Orchitis diffusa oder interstitialis syphilitica —, oder es erkrankt nur ein Teil des Hodens in derselben Weise, der dann deutlich gegen das übrige Hodengewebe abgrenzbar ist — Orchitis circumscripta syphilitica. In dem zähen, fadenziehenden, aber klaren Punktionssaft des derartig erkrankten Hodenparenchyms finden sich stets massenhaft typische Pallidae. Meist sind hier die entsprechenden Lymphdrüsen charakteristisch verändert.



3. In Form einer schwieligen Verdickung der Hodenhüllen, und zwar insbesondere der Tunica vaginalis. Auch hier erkrankt entweder ein größerer Teil der Tunica, der dann meist hüllen- oder mantelartig den oft verkleinerten, scheinbar atrophischen Hoden umgibt — Periorchitis diffusa syphilitica, oder die Tunica ist nur stellenweise in Form mehr oder weniger breiter, derber Platten verdickt — Periorchitis circumscripta syphilitica. Dieses derbe, schwielenartige Gewebe enthält ebenfalls zahlreiche Pallidae. Die Leistendrüsen sind nur bei ausgedehnteren derartigen Erkrankungen wahrnehmbar vergrößert. Meist ist dann auch der darunterliegende Hoden in oben beschriebener zirkumskripter Weise beteiligt. Zur Periorchitis circumscripta syphilitica kann man wohl auch isolierte erbsen- oder linsengroße knötchenartige Verdickungen rechnen, die oft unmittelbar unter der Skrotalhaut fühlbar sind und massenhaft typische Spirochäten enthalten.

Pathologisch-anatomisch sind diese drei Krankheitsformen folgendermaßen charakterisiert:

Die oberflächliche Schicht der Primäraffekte besteht aus einer Anhäufung von Spindel- und Rundzellen, denen zahlreiche Eiterkörperchen eingelagert sind. Dann folgt eine Uebergangsschicht, in der sich viele Plasmazellen und mehr oder weniger eosinophile Zellen sowie perivaskuläre Infiltrate finden. Die nun folgende Schicht ist charakterisiert durch zellarmes lockeres Gewebe, das in seiner Struktur gallertigem Bindegewebe gleicht mit hyaliner, spärliche Fibrillen einschließender Grundsubstanz.

Ein ähnliches, nur lockeres, aus spindel- und sternförmigen Zellen mit weiten Zwischenräumen bestehendes Gewebe finden wir auch bei den Hodenerkrankungen. Dieses Gewebe gleicht dann mehr dem myxomatösen Gewebe. Nach der Peripherie hin sieht man stets eine Zone von verfetteten Zellen und häufig kleine von einer Fettzellenschicht umgebene Knötchen mit teilweiser zentraler Nekrose. Außerdem findet man hier eigenartige große polymorphe Kerne, dann Plasmazellen, eosinophile Zellen und perivaskuläre Infiltrate.

Die Hodenschwielen endlich bestehen fast gänzlich aus reinem fibrösen Gewebe, doch finden sich auch hier Plasmazellen und kleinzellige Infiltrate.

Eine bestimmte Lagerung der in diesen erkrankten Geweben zahlreich vorhandenen Spirochäten konnten wir bisher nicht erkennen.

Wir haben die eben aufgeführten Krankheitsprodukte als primäre Kaninchensyphilis bezeichnet, weil diese nur an oder in dem geimpften Organ, also lokal auftraten, und nach ihrem Abheilen oder nach dem Entfernen derselben bisher keine Sekundärerscheinungen folgten. Ob nicht aber doch z. B. bei besonders ausgebildeter Hodenerkrankung bereits eine Allgemeininfektion besteht, ist nicht so unwahrscheinlich. Denn einmal sind, wie wir bereits erwähnt haben, bei derartigen intensiveren Erscheinungen fast stets die benachbarten Leistendrüsen auffallend charakteristisch vergrößert und dann reagieren diese so erkrankten Tiere fast regelmäßig nach Wassermann positiv. Besonders zu verwerten ist ja diese Tatsache nicht, da auch normale Kaninchen

häufig positiv reagieren. In einigen Fällen wurde der Beweis, daß eine syphilitische Allgemeinerkrankung nach intraskrotaler Impfung tatsächlich erzielt worden war, dadurch gegeben, daß bei nur einseitiger Hodenimpfung auch der andere, nicht geimpfte Hoden in typischer Weise erkrankte, ja, daß einmal noch außerdem gleichzeitig ein papelähnliches Syphilid am Anus beobachtet werden konnte.

Eine Generalisierung des syphilitischen Virus bei Kaninchen konnten wir ferner durch intravenöse Injektion größerer Mengen spirochätenhaltigen Materials (in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Hodensyphilome und Primäraffekte) erzielen. Die gelungene Allgemeininfektion dokumentierte sich in zwei Fällen dadurch, daß nach einer Inkubationszeit von ca. 2 Monaten auf der Skrotalhaut spirochätenhaltige Erosionen mit gleichzeitig typisch zirkumskripter syphilitischer Orchitis und Periorchitis auftraten. In einem dieser Fälle bildete sich etwa 6 Wochen nach Abheilung der Hodenerkrankungen spontan eine typische oberflächliche Keratitis syphilitica des einen Auges aus. Bei zwei wiederholt intravenös geimpften Kaninchen, die kurze Zeit nach der letzten Impfung gestorben waren, fanden sich in fast allen inneren Organen bei Silberfärbung massenhaft Spirochaeten. Wieviel davon eingespritzte Spirochäten waren, ist nicht ganz sicher zu sagen.

Bei zwei jungen Kaninchen, die in derselben Weise mehrmals intravenös geimpft worden waren, entstanden etwa 8 Monate nach der ersten Impfung an beiden knorpeligen Nasenöffnungen halbkugelige haselnußgroße Tumoren von derber Konsistenz. Diese Tumoren, welche zahlreiche Pallidae sowohl im Querschnitt als auch im Gewebsschnitt enthielten, glichen makroskopisch wie histologisch außerordentlich menschlichen Gummiknoten. Die Uebertragung von Stückchen dieser Geschwülste auf Kaninchenhoden gelang in mehreren Fällen. Die schwere Allgemeinerkrankung beider Tiere zeigt sich auch in dem stark reduzierten Ernährungszustand und in einem auffallend geringeren Wachstum den anderen, gesunden Geschwistern gegenüber.

Nicht unerwähnt wollen wir lassen, daß es uns auch gelungen ist, bei einem niederen Affen, einem Cercopithekus, durch intravenöse Injektion syphilitischen Kaninchenhodenmaterials eine syphilitische Allgemeinerkrankung zu erzielen, welche sich durch ein außerordentlich typisches papulo-circinäres Syphilid des Stammes und der Gliedmaßen und multipler Drüsenschwellung manifestierte. Ein Primäraffekt bestand nicht. Durch Verimpfung exzidierter spirochätenhaltiger Papelstückchen auf Kaninchenhoden gelang es, wiederholt typische syphilitische Erkrankungen dieser Organe hervorzurufen.

Diese Tatsache erscheint uns übrigens von prinzipieller Bedeutung für die experimentelle Syphilis, weil es damit einwandfrei gelungen ist, menschliches syphilitisches Virus mit Erfolg auf Kaninchen und von da auf Affen und wiederum zurück auf Kaninchen zu verimpfen und jedesmal nach einer für die Syphilis charakteristischen Inkubationszeit typisch durch den regelmäßigen Nachweis der *Spirochaete pallida* wie



durch den histologischen Befund als syphilitisch gesicherte gleichartige Krankheitsprodukte zu erzeugen. Diese Impfung gleicht einer Impfung mit einer Reinkultur und dürfte deshalb wohl auch ohne das eigentliche Experimentum crucis, d. h. ohne die Verimpfung auf Menschen statt auf Affen mit absoluter Sicherheit für die syphilitische Natur dieser experimentellen Krankheitsprodukte und für die Natur der *Spirochaete pallida* als Erreger der Syphilis.

Einen weiteren Beweis für die syphilitische Natur dieser experimentell erzeugten Hodenerkrankungen erblicken wir aber noch darin, daß es gelingt, die schwersten Formen jener Erkrankungen durch spezifische Heilmittel zum Schwinden zu bringen. Auf fallend ist das schnelle Verschwinden der Spirochäten und die rasche Resorption der wallartigen Randverdickungen der Primäraffekte und des gallertigen und fibrösen Gewebes bei ausgeprägt luetischer Orchitis und Periorchitis durch das von Uhlenhuth für die Behandlung der Syphilis empfohlene Atoxyl und insbesondere durch atoxylsaures Quecksilber.

Eine absolute Immunität für weitere Impfungen scheinen diese syphilitischen Hodenerkrankungen ebensowenig wie die stärksten luetischen Augenerkrankungen dem Kaninchen nicht zu verleihen, da Nachimpfungen erkrankter und geheilter Tiere hin und wieder von Erfolg begleitet waren.

Ebensowenig scheinen sich im Serum derartig erkrankter oder intravenös geimpfter Kaninchen spezifische Immunkörper zu bilden. So gelang es z. B. nicht mit dem Serum von Kaninchen, die dreimal in Intervallen von 7 Tagen mit größeren Mengen spirochätenhaltigen Hodenmaterials intravenös gespritzt worden waren, lebende, frischen Kaninchenprimäraffekten oder Hoden entnommene Spirochäten zu agglutinieren. Auch das Serum derartig vorbehandelter Ziegen ergab keine Spur von Agglutination, ebensowenig wie das Serum eines Affen, dem sogar 7 mal in möglichst den gleichen Zeitabständen große Mengen lebendes Spirochätenmaterial intravenös injiziert worden war.

Wir konnten ferner keinen agglutinierenden Einfluß des Blutserums von Hühnern, welche die Hühnerspirillose überstanden hatten, feststellen; auch die Behauptung Sabolotnys, daß das Serum von syphilitischen Menschen Spirochäten agglutiniere, konnten wir nicht bestätigen. Dagegen scheint nach unseren, allerdings zurzeit noch sehr geringen diesbezüglichen Erfahrungen ein aus diesen spirochätenhaltigen Kaninchensyphilomen hergestelltes Vaccin Produkte experimenteller Kaninchensyphilis günstig therapeutisch zu beeinflussen.

Unsere bereits an anderer Stelle kurz mitgeteilten negativen Resultate bezüglich der Züchtung der *Spirochaete pallida* wollen wir nach vielen weiteren derartigen kulturellen Versuchen noch einmal erwähnt haben.

In Gemeinschaft mit Händel haben wir noch einmal in letzter Zeit außer den von Schereschewsky und von Mühlens angegebenen Nährböden auch verschiedene andere, wie Hodenbouillon und Ascitesagarnährböden u. a. m., anaerob beschickt, stets mit negativem Erfolg. Auch der von Schereschewsky selbst hergestellte Nährboden wurde

ohne Erfolg beimpft. Erwähnenswert ist der Umstand, daß sich in Kulturen bzw. in Organstückchen, die im Juli vorigen Jahres in Nährböden versenkt worden waren, jetzt noch spärliche, aber gut formerhaltene unbewegliche Spirochäten fanden.

Nur kurz sei noch erwähnt, daß die *Spirochaete pallida* sich außerhalb des Tierkörpers chemischen Reagentien gegenüber im großen ganzen ebenso zu verhalten scheint, wie die Hühnerspirochäte. Unsere derartigen Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen, jedenfalls aber können wir aus denselben bis jetzt mit Bestimmtheit schließen, daß die *Spirochaete pallida* chemischen Einflüssen gegenüber viel widerstandsfähiger ist, als man allgemein bisher annahm.

Meine Herren! Gestatten Sie uns, daß wir Ihnen noch einige Lichtbilder vorführen. Außerdem haben wir verschiedene spezifisch erkrankte Kaninchen, makroskopische und mikroskopische pathologische Präparate, Zeichnungen und Photographien aufgestellt, die Sie sich, bitte, ansehen wollen, da sie das eben Vorgetragene in geeigneter Weise zu illustrieren vermögen. Im Dunkelfeld werden Sie lebende *Spirochaetae pallidae* in besonders großer Anzahl sehen können.

Demonstration:

a) lebende Tiere:

1 Kaninchen mit einem typischen Primäraffekt der Skrotalhaut,
1 Kaninchen mit einer syphilitischen Erosion der Skrotalhaut,
1 Kaninchen mit diffuser Orchitis syphilitica und typischer Leistendrüsenschwellung,
2 Kaninchen mit zirkumskripter Orchitis syphilitica,
1 Kaninchen mit Periorchitis circumscripta syphilitica,
1 Kaninchen mit knötchenförmiger Periorchitis luetica,
1 Kaninchen mit zirkumskripter Orchitis und Periorchitis syphilitica nach intravenöser Impfung.

b) pathologische Präparate:

α) makroskopisch (Kaiserling):

typischer Primäraffekt der Skrotalhaut,
Orchitis diffusa syphilitica (Querschnitt),
muschelförmige Periorchitis diffusa mit atrophischem Hoden (Querschnitt),
gummiartiger Nasentumor (Querschnitt);

β) mikroskopisch:

verschiedene Gewebsschnitte dieser Hodenerkrankungen und innerer Organe (Leber, Herz) mit massenhaft nach Levaditi gefärbten Spirochäten. Zum Vergleich Schnitt durch die Leber eines $7^1/_2$ Monate post partum verstorbenen hereditär luetischen Kindes mit zahlreichen silbergefärbten Pallidae;
Schnitte aus Primäraffekten, diffusen und zirkumskripten Hoden- und Hodenhüllenerkrankungen, auf verschiedene Weise gefärbt bei schwacher und starker Vergrößerung;
Nasentumor in derselben Weise; besonders schön gelungen

ist hier die Fettfärbung; im Vergleich hierzu menschliches Lebergummi.

c) Zeichnungen und Photographien aus dem gesamten Gebiet unserer bisherigen Forschung; besonders zu erwähnen sind die Zeichnungen der syphilitischen Hauterkrankungen des nach intravenöser Injektion erkrankten Affen.

d) Lichtbilder: Teils Diapositive obiger Photographien, teils sehr gut gelungene Lumièreplattenaufnahmen makroskopischer und mikroskopischer Krankheitsprodukte.

e) Im Dunkelfeld (Leitz, Plattenkondensor): Lebende Pallidae aus einem erkrankten Hoden.

f) Demonstration unserer Impftechnik.

Diskussion:

Schereschewski (Göttingen): Die Wassermannsche Reaktion gibt bei Kaninchenlues ganz paradoxe Ausschläge. Bei einem Kaninchen mit luetischen Allgemeinerscheinungen sah ich die Wassermannsche Reaktion negativ ausfallen, während ein normales Kaninchen, das hierbei zur Kontrolle untersucht wurde, positiv reagierte.

Spirochätenkulturen aus Kaninchenmaterial wollten auch mir nicht gelingen. Allerdings habe ich nur sehr selten Kaninchenmaterial zur Züchtung herangezogen.

Tomaczewski (Berlin): Zu den interessanten Mitteilungen von Uhlenhuth und Mulzer möchte ich kurz folgendes bemerken: Die Wassermannsche Reaktion fällt schon bei gesunden Kaninchen so häufig positiv aus, daß aus dem Ausfall der Reaktion bei mit Syphilis infizierten Tieren keinerlei Schlüsse gezogen werden können. Bei Kaninchen, die an den Genitalien (Hoden, Hodenhüllen, Skrotum, Labium) primäre syphilitische Affektionen haben, treten nicht selten im weiteren Verlauf am Präputium, Anus usw. neue Krankheitsherde auf. Ich halte diese Erscheinungen nicht für den Ausdruck einer Generalisierung, sondern für die Folge einer regionären Viruswanderung in Analogie zu Beobachtungen bei niederen Affen und beim Menschen. Wenn bei Kaninchen nach intravenöser Infektion in inneren Organen syphilitische Affektionen entstehen, so können auch diese Erscheinungen als multiple primäre Syphilome angesehen werden. Veränderungen der inguinalen Lymphdrüsen bei Primäraffekten der Genitalien habe auch ich bei Kaninchen häufig beobachtet, aber mit Ausnahme eines Falles bisher nie Spirochäten gefunden. Zum Schluß möchte ich noch mitteilen, daß es mir gelungen ist, bei Meerschweinchen durch subkutane Infektion Primäraffekte zu erzeugen, die sich in Passagen weiterimpfen ließen.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde): Daß Passagen unter Umständen abreißen, kommt vor, woran das liegt, kann man nicht sicher sagen; es liegt wohl an der Virulenz des Materials, an der Empfänglichkeit der Kaninchen sowie auch wohl an der jeweiligen Technik. Wir haben die 8. Passage; bisher ist uns die Fortzüchtung des Hodenmaterials noch immer geglückt.

Was die Hodenimpfung betrifft, so ist sie nicht von Schereschewski, sondern von Parodi und Truffi jeweils vorgenommen, es ist uns aber zuerst geglückt, große Serien systematisch im Hoden fortzuzüchten und experimentell zu verwerten.

Daß es sich um Allgemeinsyphilis nach unserer intravenösen Einspritzung handelt, unterliegt keinem Zweifel; darauf weist die Keratitis hin und die Bildung von Hautknoten an der Nase. In der Keratitis und in den Hautknoten sind Spirochäten gefunden. Wie Tomasczewski dazu kommt, hier eine generalisierte Lues zu bezweifeln, ist mir ganz unverständlich. Daß man in den Organen intravenös mit Spirochäten gespritzter Kaninchen Spirochäten von solch enormer Menge findet wie die aufgestellten Präparate das beweisen, ist immerhin auffallend. Wieviel davon auf Rechnung des eingespritzten Materials kommt, ist nicht zu sagen. Bei syphilitischen Kaninchen haben wir sonst in den Organen Spirochäten bisher nicht gefunden.

Daß Tomasczewski die Kaninchen unter die Haut des Skrotums impft, ist nicht



neu; von uns auch schon publiziert. Wenn so viele Tiere bei dieser Impfung angehen sollten, so ist das wohl ein Zufall, liegt aber nicht an der Methode.

Die Züchtung der *Spirochaete pallida* ist uns nicht gelungen. Wir haben zusammen mit Haendel die Reinkulturversuche mit Hodenmaterial gemacht, das unzählige Spirochäten enthielt. Große Stückchen und zerquetschtes Material ist in den verschiedensten Nährböden in viele Hunderte von Röhrchen geimpft worden, auch in den uns von Schereschewski hergestellten Nährböden, ebenso in dem Mühlensschen Agar, in alle möglichen anderen von uns selbst hergestellten Medien. Nie ist es zur Kultur gekommen, obwohl aërob und anaërob gezüchtet wurde. Auch Mühlens hat nicht behauptet, daß er die *Spirochaete pallida* gezüchtet habe, nachdem der Beweis nicht erbracht war, daß es wirklich *Spirochaete pallida* war, dazu war er viel zu vorsichtig, zumal da es ihm nur einmal gelungen war, eine Spirochäte vom Typus der Pallida zu züchten. Es ist anzunehmen, daß es unter den Spirochäten eine große Anzahl gibt, die vielleicht der Pallida äußerlich ähnlich sind.

Jedenfalls ist auffallend, daß es uns trotz vieler Bemühungen nicht gelungen ist, eine Kultur mit dem reinen Ausgangsmaterial und unzähligen Mengen Spirochäten zu erhalten, was Mühlens für seine erste Kultur nicht zur Verfügung stand.

Die Mischkulturen von Schereschewski haben wir auch mit nicht sterilem Corneamaterial vom Kaninchen nicht bekommen, auch da wuchs keine Spirochäte. Es scheint also auch da nur menschliches Material geeignet zu sein. Das ist doch auch zum mindesten sehr auffallend. Uebrigens habe ich mich von der Pallidanatur der mir von Schereschewski gelegentlich demonstrierten Kultur nicht überzeugen können.

H. Mulzer (Groß-Lichterfelde): Zunächst möchte ich Herrn Tomasczewski antworten. Wenn wir in unseren bisherigen Arbeiten öfter den Ausdruck „charakteristische Lymphdrüsenschwellung" gebrauchen, so verstehen wir darunter das jedem praktischen Arzt bekannte Krankheitsbild der menschlichen Syphilis, nämlich die typische Erkrankung der dem Sitze des Primäraffektes entsprechenden Lymphdrüsen. Kurze Zeit nach dem Auftreten der Primärläsion schwellen bekanntlich mehrere dieser Drüsen in einer äußerst charakteristischen Weise an. Ohne, wie bei anderen Erkrankungen die entzündlichen Drüsenschwellungen, zu erweichen und zu einem Drüsenpaket zu verschmelzen, bleiben diese Drüsen isoliert und hart, und sind dann „rosenkranzartig angeordnet" unter der Haut fühlbar. Sowohl diese lokale Drüsenerkrankung, bei deren Auftreten die Syphilis bekanntlich schon konstitutionell geworden ist, wie die im weiteren Verlauf der Allgemeinsyphilis stets vorhandenen multiplen Drüsenschwellungen kann man, wohl jedem Arzt verständlich, mit „typische oder charakteristische" Lymphdrüsenschwellung bei einer bestehenden syphilitischen Erkrankung bezeichnen. Solche „charakteristische" Lymphdrüsenschwellungen konnten wir, wie oben erwähnt, häufig bei lokal schwer erkrankten Kaninchen und insbesondere bei dem syphilitischen Affen, der ein so typisches Exanthem zeigte, beobachten. Die Drüsenpunktion war bisher stets negativ bezüglich des Spirochätenbefundes, ein Umstand, der wohl nicht besonders ins Gewicht fällt, wenn man bedenkt, daß der Nachweis der *Spirochaete pallida* im Drüsensaft syphilitisch erkrankter Menschen auch nicht immer schwer gelingt.[1]) Truffi konnte übrigens ebenfalls schon von der dritten Passage ab das beständige Vorhandensein einer Adenitis konstatieren, die sich klinisch genau so wie in unseren Fällen manifestierte. Daß diese Drüsenschwellungen spezifisch sein müssen, zeigten gelungene Ueberimpfungen von Stückchen solcher Drüsen auf normale Kaninchen.

Herrn Schereschewsky gegenüber betone ich, daß wir ja nicht gesagt haben, daß es unmöglich sei, die *Spirochaete pallida* auf seinem Nährboden zu züchten. Wir haben nur erklärt, daß es uns trotz zahlreicher diesbezüglicher Versuche und trotzdem wir, wie er ja selbst gesehen hat, zur Verimpfung Spirochäten fast in Reinkultur verwendet haben, bisher niemals gelang, auch nur eine Anreicherung derselben zu erzielen, selbst nicht auf den von Schereschewski selbst hergestellten Nährböden.

Außerdem: Kolle (Bern).

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Es ist uns inzwischen wiederholt gelungen, lebende Pallidae in solchen erkrankten Drüsen nachzuweisen. Außerdem gelang es auch uns in zwei Fällen durch Verimpfung derartiger Drüsen in die Hoden von Kaninchen syphilitische Erkrankungen dieser Organe hervorzurufen (s. Uhlenhuth und Mulzer, Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1910, Bd. 34, Heft 2, S. 222).



Hoffmann (Bonn): Was das Versagen der Impfungen betrifft, so läßt sich das Virus doch bei guter Technik von Auge zu Auge, von Hoden zu Hoden, von Haut zu Haut und von Tier zu Tier gut weiterimpfen und bei den Kaninchenaugenimpfungen habe ich jetzt mit dem ursprünglich von Bertarelli stammenden Virus die 25. oder 26. Passage erreicht, obwohl meine Bestände zeitweise durch Kaninchenseuche dezimiert wurden. Mir ist aufgefallen, daß, wenn man erst nur das eine Auge impft, häufig die Impfung negativ bleibt, dagegen fast regelmäßig und intensiver gelingt, wenn man 2—3 Monate später das zweite Auge impft. Wodurch hierbei die Empfänglichkeit erhöht wird, vermag ich nicht zu sagen, weise aber auf dies interessante Faktum hin. Auch wenn ich beide vorderen Augenkammern zugleich impfte, hatte ich fast stets einen positiven Erfolg.

Was die Frage der allgemeinen Syphilis angeht, so hat da Herr Uhlenhuth recht. Ich glaube überhaupt, daß die Lues sich stets generalisiert, dafür sprechen ja beim Affen und Kaninchen die Neißerschen Impfungen mit Organbrei und Blut der Tiere. Auch beim Menschen kennen wir ja nur eine stets generell werdende Syphilis; eine nur lokal bleibende Lues ist bei der Art des Erregers auch schwer vorstellbar.

Zu dem Entstehen der Hodenerkrankung und Drüsenschwellung nach intravenöser Impfung möchte ich bemerken, daß ich mit Löhe bei einem Seidenäffchen (Hapale) nach Impfung in die Haut eine metastatische Orchitis und Lymphdrüsenerkrankung mit massenhaften Spirochäten beobachtet habe (vor 3—4 Jahren kurz publiziert). Die von mir angegebene Drüsenpunktion gibt, wie ich mit Preis sagen muß, in der Hand eines Geübten doch in einem großen Prozentsatz positiven Erfolg.

Haendel (Groß-Lichterfelde): Asurol hat sich nach Versuchen von Uhlenhuth und mir bei Hühnerspirillose lange nicht so gut bewährt wie Atoxyl und atoxylsaures Quecksilber. Seine therapeutische Wirksamkeit war erheblich geringer. Selbst eine Injektion von 2 und 3 ccm einer 5 proz. Asurollösung brachte die Spirochäten nicht zum Verschwinden aus der Blutbahn, doch überlebten die behandelten Tiere die Infektion, während die unbehandelten Kontrollen alle zugrunde gingen.

Gegen eine Infektion mit 1 ccm spirochätenhaltigem Blute gewährten erst 4 ccm einer 5 proz. Asurollösung sicheren Schutz. Im Reagenzglase wirkte es in dieser Konzentration auf Spirochäten und Trypanosomen abtötend.

Ratten vertragen aber das Präparat sehr schlecht. Versuche, das Präparat bei trypanosomenhaltigen Ratten anzuwenden, führten daher zu keinem Erfolg.

Uhlenhuth (Groß-Lichterfelde) zeigt mehrere Lumière-Aufnahmen im Projektionsbilde und macht auf die außerordentliche Bedeutung derselben für Lehrzwecke aufmerksam. Die Aufnahmen ersetzen fast vollkommen frische Präparate.

Es wird demonstriert:

1. ein Darm eines an Schweinepest gestorbenen Schweines mit zahlreichen Ulzerationen;

2. die Niere eines an Schweinepest gestorbenen Schweines mit zahlreichen punktförmigen Blutungen;

3. eine Ratte mit zwei Tumoren (Sarkom);

4. bunte Nährböden für die Untersuchung der Typhus-Paratyphusgruppe;

5. Kopf eines Huhnes mit Geflügelpocken.



XII. Finkler und Selter (Bonn):

Von Papageien auf den Menschen übertragbare Erkrankungen (Psittakosis).[1])

Im letzten Sommer wurde eine Epidemie von 26 schweren, akuten Erkrankungen mit 5 Todesfällen beobachtet, die von Zülpich ihren Ausgang nahm und mit Wahrscheinlichkeit auf eine Infektion von Papageien aus zurückgeführt werden konnte. Es handelte sich um Streptokokkenpneumonien, deren Erreger kulturell von den gewöhnlichen Streptokokken abwichen. Anscheinend dieselben Streptokokken ließen sich auch in den Kadavern der Papageien nachweisen. Wenn hieraus schon ein Zusammenhang der menschlichen Erkrankungen mit den Papageien angenommen werden mußte, so deuten auch die epidemiologischen Beobachtungen darauf hin. Eine Infektion von Mensch zu Mensch war auszuschließen. Trotzdem die Krankheit außer in dem ersten Hause mit 5 Fällen, in dem sich die Papageien befunden hatten, in Zülpich noch in 5 Häusern und außerdem in 10 anderen Orten, also im ganzen in 16 Krankheitsherden auftrat, ist eine weitere Infektion von diesen Herden aus niemals erfolgt. Es erkrankten nur Personen, welche das Papageienzimmer betreten hatten. 2 Krankenschwestern, welche eine Nacht hindurch einen Kranken im ersten Hause gepflegt, dabei aber das Papageienzimmer nicht betreten hatten, blieben gesund, dagegen erkrankten 3 Schwestern, welche nachweislich in dem Zimmer gewesen waren. In einem anderen Hause in Zülpich mit 3 Kranken pflegten 2 Schwestern wochenlang ohne zu erkranken.

In späteren Untersuchungen gelang es, aus der Rachenschleimhaut von gesunden Papageien in 3 Fällen Streptokokken nachzuweisen, die mit den früher bei menschlichen Erkrankungen und den Zülpicher Papageien gezüchteten eine große Aehnlichkeit hatten. Da die Papageien die Gewohnheit haben zu spucken, worauf erst nachträglich die Aufmerksamkeit gelenkt wurde, kann man annehmen, daß hierbei Bakterien von der Rachenschleimhaut abgerissen werden und in die Außenluft gelangen. Auf diese Weise könnte man sich auch vorstellen, daß die Streptokokken von den Zülpicher Papageien in die Luft und mit dem Atemstrom direkt in die Lungen der Menschen gelangt seien.

Die von Nocard in Paris im Anschluß an eine große Psittakosisepidemie 1893 entdeckten Psittakosisbazillen haben mit menschlichen Erkrankungen sicherlich nichts zu tun. Wohl können sie anscheinend bei Papageien eine typische Krankheit verursachen. Man sollte deshalb die Nocardschen Bazillen, wenn man den Namen Psittakosis für die von Papageien auf Menschen übertragbaren Erkrankungen festhalten will, besser Papageienpestbazillen nennen, da sie mit den Schweinepestbazillen in eine Gruppe zu rechnen sind.

---

[1]) Eine ausführliche Beschreibung ist von Bachem, Selter und Finkler im Klinischen Jahrbuch erschienen.



Diskussion:

Czaplewski (Köln) hatte seinerzeit Gelegenheit gehabt, bei der Kölner kleinen Endemie von fraglicher Psittakose im Verein mit dem verstorbenen Herrn Geh. Rat Leichtenstern[1]) Untersuchungen anzustellen. Statt der erwarteten Nocardschen Psittakosebazillen fand er Streptokokken, speziell als Erreger der Pneumonie und war der Ansicht, daß es sich dabei um die von Finkler zuerst beschriebenen infektiösen Streptokokkenpneumonien handeln dürfte.

Aus dem erkrankten Papagei konnten keine Streptokokken nachgewiesen werden.

Lentz (Berlin): Herr Geh. Rat Gaffky und ich hatten beim Lesen des Berichtes, den Herr Geh. Rat Finkler über diese Krankheitsfälle an das Ministerium erstattet hatte, unabhängig voneinander den Eindruck, daß die Infektion der vielen Personen kaum gleichzeitig von einem einzigen Herde aus erfolgt sein dürfte, sondern daß es sich hier um eine Kette von Uebertragungen von Person zu Person handele. Dieser Eindruck wurde zunächst durch den Umstand hervorgerufen, daß die Inkubation bei Annahme gleichzeitiger Infektion in einzelnen Fällen kaum 2 Tage, in anderen dagegen erheblich länger, bis zu 21 Tagen betragen haben müßte. Dazu kam, daß unter den zuletzt Erkrankten mehrfach Personen sich befanden, die vorher tagelang erkrankte Angehörige gepflegt haben; in einzelnen Fällen reihen sich so in fern von Zülpich gelegenen Häusern mehrere Erkrankungen kettenförmig aneinander, so daß hier die Annahme einer gleichzeitig erfolgten Infektion geradezu etwas Gezwungenes hat.

Ferner schien uns die Identität der bei den Erkrankten und den Papageien gefundenen Streptokokken keineswegs erwiesen. Diese Zweifel werden bei mir heute durch die Mitteilung des Herrn Selter, daß die Papageien bereits 2 Tage in der Erde gelegen hatten, ehe sie zur Untersuchung kamen, ganz erheblich verstärkt; denn was in einem 2 Tage verscharrten Kadaver vor sich geht, entzieht sich ja vollständig unserer Kontrolle.

Außerdem: Finkler (Bonn), Czaplewski (Köln), Selter (Bonn).

XIII. Mayer und Waldmann (München):

Beobachtungen über Genickstarre speziell über Keimträger.[2])

Meine Herren! Ich möchte kurz über Beobachtungen bei Genickstarre berichten, welche ich gemeinsam mit Oberarzt Waldmann und Fürst, Dr. Hannes und Dr. Gg. Gruber zu machen Gelegenheit hatte. Die Genickstarre ist bekanntlich, seitdem wir sie kennen, in Schüben aufgetreten, mehr oder weniger den europäischen oder nordamerikanischen Kontinent, außerdem beide mehr oder weniger gleichzeitig, umfassend. Hirsch bezeichnet sie als ausgesprochene Krankheit der gemäßigten Zone, demgegenüber sind jetzt Epidemien in den Tropen und Subtropen beschrieben, die japanische Armee verzeichnet ständig Erkrankungen. Eine Art Barometer für ihr mehr oder weniger gehäuftes Auftreten sind die Sanitätsberichte der größeren Armeen. In den beiden Tabellen bringe ich einige Kurven. Die preußischen Sanitätsberichte zeigen Höhepunkte um die Jahre 80, 87/88, 93/94, 1900 bis zum Gipfel

---

[1]) Leichtenstern, Ueber „infektiöse" Lungenentzündungen und den heutigen Stand der Psittakosisfrage. Centralbl. f. allgem. Gesundheitspflege, Bd. XVIII, 1899. Sonderabdruck 63 S.

[2]) Vorgetragen von G. Mayer.

05/06. Die bayerische Armee macht die Kurven mit, außerdem aber die Zivilbevölkerung der Städte, der Provinz, wo die Genickstarre in den Garnisonen häufiger ist: Würzburg, Unterfranken, München. Dies scheint Wechselbeziehungen zwischen Zivil- und Militärbevölkerung anzudeuten, wie wir sie in genannten Orten wahrscheinlich machen konnten und im Centralbl. f. Bakt. 1909, in der Münch. med. Wochenschr. 1910, auf der Naturforscherversammlung in Salzburg 1909 sie berichteten.

Aehnlich tritt, wie aus der weiteren Tabelle ersichtlich, bei anderen Armeen die Krankheit in Schüben auf, so in der französischen 88/89, 95/96, 1900 mit Gipfel 05/06; in der italienischen 88/89, 93/94, 98/99; in der Unionarmee 99 und 07, in Belgien 86/88 und 96/97. Die Wellentäler und -berge fallen, wie ersichtlich, teilweise in geradezu auffallender Weise unter sich und mit denen der deutschen Armee zusammen. Naheliegende, weitere Schlüsse scheinen mir zunächst nicht erlaubt, doch scheint die Kurve gegen rein örtliche und zeitliche Einflüsse zu sprechen.

Schon in Salzburg teilte ich mit, daß bei einer Epidemie in München im abgelaufenen Jahr, mit 41 Fällen in den verschiedensten Truppenteilen, eine ausgesprochene Wirkung der rigoros durchgeführten Desinfektion und Isolierung bei Kranken und Trägern nicht zu konstatieren war. In Truppenteilen, in denen wir prophylaktisch, zuerst aus den Zimmern, dann Kompagnien, Bataillonen, Regimentern, teilweise bevor überhaupt Erkrankungen auftraten, in 2—3 maliger Untersuchung die Keimträger vorwegzunehmen versuchten, traten unbekümmert weitere Fälle auf. Die von uns für die Diagnose der Kokken im Rachenschleim gestellten Bedingungen haben wir im März dieses Jahres in der Münch. med. Wochenschr. beschrieben. — Je öfter wir einen Truppenteil durchsuchten, desto mehr Träger fanden sich im allgemeinen. Wie aus der 3. Tabelle ersichtlich, stellten wir zur Zeit der Krankheit in verschiedenen Garnisonen im ganzen unter 1911 gesunden Personen 47 Träger = 2,46 Proz. fest. Niemals wurde später bei Kokkenträgern Erkrankung beobachtet.

Alle diese Umstände veranlaßten die Medizinalabteilung des Kgl. bayer. Kriegsministeriums, uns die Aufgabe zu stellen, in genickstarrefreier Zeit bei einer großen Zahl Gesunder die Verbreitung von Genickstarrekokken festzustellen. In kleinerem Maßstabe sind solche Untersuchungen bekanntlich von Kutscher, von Selter, von mir ausgeführt. Es erschien aber nötig, einmal in großem Maßstab zu erheben, ob Keimträger nur zur Zeit von Genickstarre vorkommen, ob sie nur zu dieser Zeit gehäuft vorkommen, ob mit einer weiteren Verbreitung, einem gewissermaßen ubiquitären Vorkommen zu rechnen ist, wie z. B. bei Pneumokokken, ob die Isolierung der Träger eine Indikation bei Einzelfällen und Häufungen bleiben muß, ihr Vorhandensein bei Disponierten ohne weiteres Krankheitsfälle nach sich zieht, wie bei Typhus, Cholera, oder ob sie weit verbreitet vorkommen, ohne zu Infektion Anlaß zu geben, also, wie gesagt, ubiquitäre Parasiten sind.

Wie aus der 4. Tabelle ersichtlich, haben wir in genickstarrefreier Zeit die ganze Garnison München, 9111 Mann, untersucht. Das Prozentverhältnis der Keimträger bei den einzelnen Truppenteilen schwankt, wie auch aus der Kurve ersichtlich, regellos zwischen 2,94 und 0,71 Proz., im Durchschnitt fanden sich 1,73 Proz. In den kleineren Truppenverbänden, Kompagnien usw., waren die Träger ganz regellos verteilt, manch-



mal keine, manchmal zahlreiche. Von 35 Trägern, die wir früher festgestellt hatte, fanden wir nur 4 wieder. Die absolute Zahl aller bei einmaliger Untersuchung der Garnison festgestellten Träger ist 158, eine sehr erhebliche Menge für Lazarettisolierung usw. Die 49 zuerst festgestellten waren gleichwohl isoliert, die übrigen 109 blieben in der Truppe, Erkrankungen erfolgten bis jetzt nicht. Es besteht keinerlei Verhältnis zwischen der Häufigkeit der Keimträger bei der Garnisonsuntersuchung zur Zahl der früher in den Truppen erschienenen Erkrankungen. Im Gegenteil, die größte Zahl, 2,94 Proz., ist in einem Regiment, das überhaupt keine Fälle aufweist. In der 4. Tabelle ist das ‰-Verhältnis an Trägern und Kranken in den einzelnen Kasernenkomplexen dargestellt, in der Max II.-Kaserne, mit den meisten Erkrankungen, sind die wenigsten Träger, in den Oberwiesenfeldkasernen, mit der zweitwenigsten Erkrankungszahl, die meisten. Die Bauart der Kasernen hat ebenfalls keinerlei Einfluß. Die Oberwiesenfeldkasernen mit der größten Trägerzahl sind die modernsten, erst vor einigen Jahren erbauten Kompagniekasernen, die Max II.-Kaserne mit den wenigsten Trägern ist eine typische Korridorkaserne. Schon während der Epidemie fiel ein ähnliches Mißverhältnis zwischen Trägern und Kranken auf, in der näheren Umgebung der Kranken, Zimmer, Kompagnie usw. fanden sich, auch bei mehrmaliger Untersuchung, mehrmals keine, dagegen in der weiteren, nachweislich mit den Kranken nicht zusammengekommenen. Beziehungen zum Zivilberuf, Herkunftsort, Rückschlüsse daraus auf eventuelle Beziehungen zu endemischen Herden ließen sich trotz umfangreicher Erhebungen in keiner Weise feststellen, ebensowenig eine Abhängigkeit von Rachenkatarrhen, Mandelentzündungen usw. Keimträger fanden sich unter den Mannschaften, welche lediglich Bureau- und sonstigen inneren Dienst machten, genau so wie unter den zum Exerzieren ausrückenden.

Einige Beobachtungen über die Dauer des Aufenthalts der Mgc. in der Rachenschleimhaut seien noch angeführt, erhoben bei 96 nach ihrer Feststellung im Lazarett Isolierten. Wie die 5. Tabelle zeigt, ließen sich bis jetzt 6 periodische, 12 zeitliche, 78 verübergehende Träger unterscheiden. Als periodisch bezeichnen wir solche, bei denen 4 Wochen und länger der Nachweis nicht gelang, um dann wieder erbracht zu sein. Die Beispiele der Tabelle zeigen Pausen von 48 und 51 Tagen. Als zeitlich bezeichnen wir solche, bei denen wochen- und monatelang der Nachweis ziemlich konstant gelingt, um dann aufzuhören. Als vorübergehend sprechen wir Fälle an, bei denen nur 1—3 mal kurz hintereinander Befund vorhanden ist, diese Träger sind die häufigsten.

Unsere Schlußfolgerungen dürfen lauten: In genickstarrefreier Zeit fanden sich bei 9111 Gesunden nach einmaliger Untersuchung 1,73 Proz. Mgc.-Träger, eine Zahl, welche von dem Verhältnis 2,46 Proz. bei 1911 Gesunden und mehrmaliger Untersuchung während des Herrschens von Genickstarre wenig abweicht. Es scheint als wenn die Mgc. ubiquitär beim Menschen vorkommen, und zwar in einem Prozentsatz von rund 2 Proz. — Die Isolierung der Keimträger hatte auf den Fortgang der Epidemie keinen Einfluß, epidemiologisch beweisende Beziehungen zwischen Trägern und Kranken waren nicht festzustellen. Der mühsame, kulturelle Nachweis der Mgc.-Träger verliert daher an Wert, ist zur Bekämpfung der Genickstarre keine zwingende Notwendig-



keit und praktisch kaum oder überhaupt nicht ausführbar. Die Kranken, vielleicht besonders Leichtkranke, scheinen unter uns noch unbekannten Bedingungen, eventuell solchen der individuellen Disposition, über welche wir bis jetzt höchstens Vermutungen äußern können, die Hauptrolle bei der Verbreitung der Genickstarre zu spielen.

Diskussion:

Trautmann (Hamburg): Herrn Mayers Ausführungen sind mir zunächst um deswillen interessant, weil in ihnen ein wertvoller Beleg für von mir selbst vor einigen Jahren (Klinisches Jahrbuch 1908, S. 439ff.) gemachte Mitteilungen erblickt werden darf. Denn mit der Angabe über die ungemein große Verbreitung der Keimträger bei den Genickstarreepidemien Oberschlesiens und Westfalens, welche in den Instituten von v. Lingelsheim, Flügge und Bruns so sorgsame Bearbeitung erfahren haben, hatten unsere in Hamburg im Jahre 1907 gemachten Beobachtungen nicht übereinstimmen wollen. Ich sah mich daher in Weiterbildung Brunsscher Auffassungen zu der Annahme genötigt, daß diese Verhältnisse bei strengen und flauen Epidemien Unterschiede aufweisen müßten.

Bei unseren damaligen Untersuchungen interessierten mich namentlich die Häufung und das hartnäckige Haften von Kokkenträgern in einer Reihe von mir als „Keimträgerfamilien" bezeichneten Hausständen. Die Wohnungen dieser Familien waren durchweg hygienisch einwandfrei, so daß ich mit Westenhoeffer anatomisch-Eigentümlichkeiten (Lymphatismus) anzunehmen geneigt war. Die Mitteilungen des Herrn Vortragenden enthalten auch für dieses eigentümliche Haften der Keime Parallelen, und ich möchte fragen, ob solche Truppenteile, bei denen sich eine Häufung und Haftung von Keimen feststellen ließ, aus bestimmten Gegenden sich rekrutiert hatten, bzw. ob in diesen Gegenden Anomalien wie Lymphatismus u. dgl. beobachtet werden; oder auch, ob mehrere Glieder einer und derselben Familie im Spiele waren.

Der Auffassung einer weiten Verbreitung des echten Weichselbaumschen Meningokokkus bei nicht mit Kranken oder Keimträgern in Berührung gewesenen Personen kann ich mich bisher nicht anschließen. Es ist sehr sorgfältige Prüfung der gewonnenen Kokken notwendig und ich möchte die Frage, die der Herr Vorsitzende soeben auch aufwirft, wie die Identität gesichert wurde, unterstützen.

Sehr schön zeigen Herrn Stabsarzt Mayers Darlegungen den geringen praktischen Wert der Isolierung. Wie in Wirklichkeit, allen Anordnungen zum Trotz, doch Verbindungen zur Außenwelt angestrebt und gefunden werden und wie so die Keim- und Krankheitsverschleppung trotz Isolierung die Folge ist, zeigen wenige Beispiele so drastisch, wie eine Reihe der von Löffler (Klinisches Jahrbuch 1908, S. 497ff) für Diphtherie mitgeteilten.

Jäger (Koblenz): Das Fahnden auf Kokkenträger ist eine auf die praktische Prophylaxe gerichtete Maßnahme: es gilt, so schnell wie möglich diejenigen aus dem Verkehr herauszufangen, welche die Infektion weiter tragen können. Der Nachweis der Meningokokken aus dem Rachen- oder Nasenschleim auf dem Wege der Züchtung und Identifizierung mittels aller zur Zeit beanspruchten Hilfsmittel erfordert aber enorm viel Zeit und Arbeitskräfte, zumal da es sich fast stets um Massenuntersuchungen — einer Kompagnie, eines Bataillons, der Belegschaft eines Bergwerks nebst den zugehörigen Frauen und Kindern — handelt. Diese große Zahl von Arbeitskräften steht aber fast nirgends im entscheidenden Augenblick zur Verfügung, mindestens nicht in militärischen Verhältnissen, wo die stets unzureichende Zahl an Hilfsärzten beim Ausbruch einer epidemischen Krankheit sofort durch die gesteigerte truppenärztliche und Lazaretttätigkeit aufgebraucht ist. Wir werden aber in der praktischen Prophylaxe nichts erreichen, wenn wir Anforderungen aufstellen und Vorschriften erlassen, die praktisch undurchführbar sind.

Die kulturelle Massenuntersuchung gibt aber auch unsichere Resultate: es gibt schwer agglutinable Stämme, die der Identifizierung leicht entgehen können, denn es bleibt stets zu berücksichtigen, daß das Fahnden auf Kokkenträger in kurzer Zeit zum Ziele führen muß und sich nicht zu einer — biologisch noch so interessanten — Detailsstudie über einen isolierten Stamm auswachsen darf. Andererseits

werden z. B. diejenigen, welche einen besonderen *Diplococcus crassus* aufstellen zu müssen glauben, der zwar bei Meningitiskranken intracellulär sogar in der Lumbalflüssigkeit vorkommt und ebenso hoch agglutiniert wie der echte Meningokokkus, aber doch kein Meningokokkus sei, der Ansicht sein, daß die kulturelle Auffindung eines solchen Kokkus leicht dazu führen kann, daß sein Träger zu Unrecht als genickstarreverdächtig abgesperrt wird. — Also die Unvollkommenheit alles Irdischen haftet auch dem kulturellen Nachweis der Kokkenträger an.

Demgegenüber möchte ich nochmals auf die seinerzeit von mir zur vorläufigen Orientierung als praktisch brauchbar empfohlene Methode der mikroskopischen Untersuchung von Ausstrichen des Nasen- und Rachenschleims, das Fahnden auf intracelluläre Diplokokken — man mag meinethalb den Anspruch hinzufügen, daß sie sich nach Gram entfärben — hinweisen: es ist unrichtig, wenn behauptet wird, daß solche Bilder häufig auch bei Nichtkokkenträgern vorkommen; im Gegenteil, diese Bilder sind bei Unverdächtigen höchst selten. Ich möchte aber nicht abermals mißverstanden werden: Das Verfahren soll keine bessere, zuverlässigere Methode an die Stelle des kulturellen Nachweises setzen, sondern soll statt des praktisch undurchführbaren ein praktisch durchführbares bieten, das rasch zum Ziele führt. — Mängel haften beiden Verfahren an.

Der Nachteil der mikroskopischen Untersuchung wird bei der exquisiten Neigung der Meningokokken, sich in den Leukocyten anzusiedeln, dann höchstens darin bestehen, daß man gelegentlich einmal einen Unverdächtigen mitisoliert; bei den Trägern echter Meningokokken wird man aber auch intracelluläre Kokken antreffen und aus diesen das Urteil: „verdächtig" ableiten.

Die kulturelle Untersuchung beschränkt sich dann auf die bei der mikroskopischen Untersuchung gefundenen Verdächtigen und es bleibt unbenommen, diese Art der Untersuchung je nach der zur Verfügung stehenden Zeit und Zahl der Arbeitskräfte, d. h. nach ihrer praktischen Durchführbarkeit, beliebig auszudehnen.

Scheller (Breslau): Ich möchte Herrn Mayer gegenüber bemerken, daß es meiner Meinung nach trotz seiner Untersuchungsergebnisse ein Unding ist, bei Genickstarre die Untersuchung und Bekämpfung der Bazillenträger außer acht zu lassen, zumal wir hierin bisher die einzige Handhabe für die Bekämpfung der Genickstarre erblicken müssen. Gänzlich undurchführbar ist die Forderung des Herrn Jäger, die Bazillenträger nur mikroskopisch und nicht kulturell zu untersuchen; denn wer einmal systematisch Rachenuntersuchungen vorgenommen hat, wird es mir sicher bestätigen, daß erstens meningokokkenähnliche, gramnegative Diplokokken äußerst häufig gefunden werden, daß ferner eine Unterscheidung dieser gramnegativen Kokken von den Meningokokken im mikroskopischen Bilde gänzlich unmöglich ist. Gegenüber einer Diskussionsbemerkung möchte ich noch betonen — ich bin auch von Herrn Geheimrat Löffler autorisiert worden, dies in seinem Namen zu erklären —, daß nach Löfflers und meinen Untersuchungen bei der Diphtherie im Gegensatz zu den hier vorgetragenen Ergebnissen bei der Meningitis, die Zahl der Bazillenträger in einem direkten Verhältnis mit der Zahl der Erkrankungen steigt und daß sich die Bazillenträger nur in der Umgebung der Kranken finden, daß also bei der Diphtherie sicherlich die Zahl der Bazillenträger in nachweislichem Zusammenhang mit der Zahl der Erkrankungen steht.

Schlußwort:

Mayer (München) stellt die Uebereinstimmung der Diskussionsordner zu seinen Ausführungen fest und bemerkt gegenüber dem Vorschlag Jägers, daß derselbe wegen der erheblichen Möglichkeit von Täuschungen nicht in Betracht gezogen werden dürfe.



XIV. Ostertag (Groß-Lichterfelde):

Aetiologie und Prophylaxe einer Euterseuche.

(Referent: Herr Weichel.)

In Gemeinschaft mit Herrn Geheimrat Ostertag hatte ich Gelegenheit, eine in ihrer Aetiologie nicht völlig geklärte, seuchenhaft auftretende Euterentzündung bei jungen Rindern, die noch nicht gekalbt haben, und bei Kühen, die keine Milch absondern, zu untersuchen. Die Krankheit befällt gewöhnlich nur ein Euterviertel. Sie verläuft unter Fiebererscheinungen, führt zu Störungen in der Futteraufnahme und zu Abmagerung. Wird die Entzündung nicht schon in den ersten Tagen erkannt — wie dies bei Weidegang der Fall zu sein pflegt —, so nimmt sie trotz energischer medikamentöser Behandlung meist einen chronischen, zum Teil monatelang dauernden Verlauf. Man findet dann die Drüsensubstanz stark atrophiert oder induriert und von größeren und kleineren Abszessen durchsetzt.

Die lokalen Erscheinungen der Krankheit bestehen in einer Schwellung des betroffenen Euterviertels und der zugehörigen Lymphdrüsen. Nach einigen Tagen machen sich auch Veränderungen am Sekret bemerkbar: es nimmt eine wässrige, später eitrige oder blutigeitrige und übelriechende Beschaffenheit an. Da und dort treten im Euter fluktuierende Stellen auf, die teils spontan durchbrechen, teils unter Induration des umgebenden Gewebes sich abkapseln.

Als Erreger wurde der *Bac. pyogenes bovis liquefaciens* nachgewiesen. Dieses Stäbchen fand sich in 90 Proz. der untersuchten Fälle in Reinkultur; in 10 Proz. konnten wir außerdem vereinzelte Streptokokken und Kolibakterien nachweisen.

Bei der Verimpfung von Reinkulturen in die Milchzisterne von 2 Rindern, 3 Schafen und 2 Ziegen erhielten wir in allen Fällen positive Resultate. Die Inkubationsfrist betrug durchschnittlich 24 Stunden. Im Anschluß an die galaktogene Infektion entwickelte sich eine Euterentzündung, die in ihren Erscheinungen und in ihrem Verlauf mit der natürlichen Mastitis völlig übereinstimmt.

Durch Verfütterung von Reinkultur und von Eiter an 2 Rinder, durch subkutane und intravenöse Impfung je einer Ziege und eines Schafes konnten wir keine Mastitis erzeugen.

Bei den Immunisierungsversuchen war weder durch Verfütterung großer Mengen von virulenten Reinkulturen noch durch wiederholte subkutane Injektionen von lebenden oder abgetöteten Pyogenesbazillen, auch bei mehrfach vorgenommenen Impfungen in der Umgebung der später infizierten Euterviertel, eine nennenswerte lokale Immunität nicht zu erzeugen. Erst die wiederholte intravenöse Injektion schützte und zwar in einigen Fällen sogar vollständig gegen eine nachträgliche In-



fektion. Da jedoch, um eine einigermaßen sichere Immunität zu erreichen, mehrere intravenöse Injektionen notwendig sind, und auch leicht Komplikationen wie Thrombose und Nekrose an der Impfstelle entstehen können, so haben wir uns der lokalen Immunisierung zugewandt. Die Versuche an 2 milchenden und 2 nicht milchenden Ziegen haben uns gezeigt, daß die einmalige Vorbehandlung auch nur einer Euterhälfte mit 10—15 ccm abgetöteter Serumbouillonkultur oder mit 10—15 ccm eines Schüttelextraktes aus einer virulenten Bouillonkultur außer Laktation befindliche Ziegen gegen eine 14 Tage und 4 Wochen später erfolgende künstliche Infektion beider Euterhälften mit Reinkultur oder mit virulentem Eiter vollständig schützt, während bei sezernierendem Euter durch einmalige und einseitige Vorbehandlung mit denselben Mengen nur eine unvollständige und kurzdauernde Immunität erzielt wird.

XV. Zwick (Groß-Lichterfelde):

Ueber den Erreger des infektiösen Abortus des Rindes.

Seit etwa einem Jahr sind in der Leitung stehenden Veterinärabteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes Untersuchungen über den infektiösen Abortus des Rindes im Gange, in erster Linie zur Lösung der Frage, ob das ansteckende Verkalben, wie es in Deutschland vorkommt, durch den nämlichen Bazillus erzeugt wird, den Bang und Stribolt als Erreger des in Dänemark verbreiteten infektiösen Abortus des Rindes erkannt und beschrieben haben.

Die unter Benützung eines reichen Materials angestellten Untersuchungen, an denen Herr Dr. Weichel und, nach dessen Ausscheiden aus dem Gesundheitsamt, Herr Dr. Zeller beteiligt sind, haben in der Tat die ätiologische Einheit des in Dänemark und in Deutschland, ebenso wie des in England und Holland auftretenden ansteckenden Verkalbens ergeben.

Durch vergleichende Untersuchung einer Reihe von Stämmen, die aus verschiedenen verseuchten Beständen gewonnen wurden, konnten bei einigen Stämmen gewisse Unterschiede festgestellt werden. Außerdem wurde ermittelt, daß der Bazillus nicht streng das von Bang und Stribolt als typisches beschriebene Wachstum einhält, vielmehr einer aeroben Lebensweise sich anzupassen vermag und auf verschiedenen gebräuchlichen Laboratoriumsnährböden unschwer fortgezüchtet werden kann. Ja es ist sogar in einigen Fällen gelungen, den Abortusbazillus direkt aus dem Tierkörper unter aeroben Verhältnissen zu züchten.

Weitere Mitteilungen bezogen sich auf Versuche, die zusammen mit Herrn Dr. Wedemann angestellt wurden und durch die das Verhalten des Bazillus zu verschiedenen Gasen (Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff) und sowie zu erhöhtem Sauerstoff- und Luftdruck geprüft wurde.

Bei trächtigen Schafen, Ziegen und Kaninchen konnte mittels Rein-



kulturen des Abortusbazillus durch intravenöse und intravaginale Infektion sowie auf dem Fütterungswege Abortus mit seinen typischen Merkmalen ausgelöst werden.

Die weiteren Ergebnisse, über die berichtet wurde, bezogen sich auf die Diagnostik des infektiösen Abortus, der mit Rücksicht auf seine Bekämpfung und auch in forensischer Hinsicht eine ganz besondere Bedeutung zukommt. In Uebereinstimmung mit dänischen und englischen Forschern (Stockman, Holth, Grinstedt, Wall) hat sich ergeben, daß das Serum der Tiere, die abortiert haben, Agglutinine und komplementbindende Substanzen enthält. Der Agglutinationstiter der untersuchten Seren von Abortuskühen bewegte sich zwischen 1 : 100 bis 1 : 10 000, während der Titer des Serums von gesunden und sonst einwandfreien Tieren nicht über 1 : 20 betrug. Allerdings lieferte auch das Serum von Rindern, die in Ställen standen, wo der infektiöse Abortus herrscht und bei denen eine Uebertragung der Abortusbazillen auf geschlechtlichem Wege nicht in Betracht kommen konnte (Jungrinder, Ochsen) Agglutionationswerte bis 1 : 50, ja sogar bis 1 : 200. Nach vorausgegangenem Abortus hält sich der Agglutinationstiter des Blutserums der infizierten Tiere verhältnismäßig lange auf der Höhe, um allmählich abzufallen. Neben der Agglutination wurde die Komplementablenkung geprüft und auch sie wurde als brauchbare Methode zum Nachweis einer Infektion mit Abortusbazillen erkannt. Im allgemeinen stimmten die durch Agglutination und die durch Komplementbindung gewonnenen Resultate gut überein. Zur Erlangung einwandfreier Ergebnisse bei der Diagnosestellung dürfte sich die kombinierte Anwendung beider Methoden empfehlen. In dem Blutserum der abortierten Früchte konnten keine biologisch aktiven Substanzen nachgewiesen werden, selbst dann nicht, wenn offensichtliche und hochgradige pathologisch-anatomische Veränderungen an den Organen der Föten zugegen waren. Diese bestanden in einer eitrigen oder hämorrhagischen Entzündung der Labmagen- und Darmschleimhaut, Blutungen unter den serösen Häuten und in der Muskulatur, flüssigen und festen Exsudaten in der Brust- und Bauchhöhle. Der Referent ist geneigt, die in Abortusställen vorkommenden Fälle von Kälberruhr auf den Abortusbazillus als primäre Ursache zurückzuführen.

Die mit Abortin, einem nach Art des Tuberkulin aus Abortuskulturen hergestellten Präparat, vorgenommenen Prüfungen sind noch zu wenig zahlreich, um ein bestimmtes Urteil über seinen Wert oder Unwert in diagnostischer Hinsicht abgeben zu können, jedoch sind die bisherigen Ergebnisse ermutigend.



XLVI. C. Titze (Groß-Lichterfelde):

Ueber die Kälberruhr.

Die Kälberruhr stellt bekanntlich keine ätiologische Einheit dar, es können vielmehr die verschiedensten Bakterienarten als Erreger in Betracht kommen. So sind in erster Linie Varietäten aus der Colityphusgruppe zu nennen, darunter die bekannten Fleischvergifter des Gärtner- und Paratyphus B-typus, dann werden Bakterien der hämorrhagischen Septikämie, Kokken, *Bacillus proteus* und *Bac. pyocyaneus* angegeben. Inwieweit es sich bei vielen Bakterienfunden um nebensächliche Sekundärinfektion handelte, konnte nicht immer entschieden werden. Jedenfalls zeigen Infektionsversuche an Saugkälbern, daß mit den verschiedenen Bakterienarten Kälberruhr hervorgerufen werden kann.

Auf eine weitere Ursache der Kälberruhr hat Zwick aufmerksam gemacht, indem er nachwies, daß in Beständen, in denen seuchenhafter Abortus herrscht, der Abortusbazillus Kälberruhr verursachen kann.

Eine gewisse Unbefriedigung erweckt bei dem Ergebnis der ätiologischen Forschungen über Kälberruhr die Mannigfaltigkeit der Bakterienbefunde in den einzelnen Enzootien, also der Umstand, daß eine den klinischen Erscheinungen und dem Verlaufe nach einheitliche Kälberseuche in ursächlicher Beziehung eine solche Vielheit darstellt. Wir haben deshalb Infektionsversuche an 10 Kälbern mit keimfrei filtriertem Blut und Organpreßsaft von Ruhrkälbern ausgeführt, aber keinen Anhalt dafür gewonnen, daß etwa ein filtrierbares Virus als Erreger in Betracht kommen könne.

Unter diesen Verhältnissen ist zur Verhütung der Kälberruhr der Vorschlag von Evers, die neugeborenen Kälber in einem Kasten aufzuziehen, als ein glücklicher Gedanke anzusehen. Die Aufzucht der Kälber in einem leicht desinfizierbaren Kasten schützt die Tiere zunächst nach Möglichkeit vor einer Infektion. Stellt sich aber trotz dieser Maßnahmen noch Ruhr ein, so wird wenigstens verhindert, daß die Kälberruhrbakterien im Stalle ausgestreut werden.

Die Schutzimpfungen gegen Kälberruhr mit Seren und Bakterienprodukten haben bisher versagt; auch ist in dieser Hinsicht wegen der mannigfaltigen Ursachen kaum etwas zu erwarten.



XLVII. Zwick (Groß-Lichterfelde):

Ueber die sogenannte Pseudowut.

Im Jahre 1902 hat Aujeszky in Budapest eine neue bei Haustieren vorkommende Krankheit beschrieben, die durch gewisse klinische Erscheinungen an die Wut erinnert. Auch von anderen ungarischen Tierärzten, zuletzt von Hutyra, sind Mitteilungen über diese Krankheit bekannt gegeben worden. Herr Professor Aujeszky hat in sehr dankenswerter Weise Herrn Geheimrat Ostertag virulentes Material überlassen. So war Gelegenheit geboten, im Kaiserlichen Gesundheitsamt einige orientierende Untersuchungen über diese Krankheit anzustellen.

Bis jetzt wurde die Krankheit nur in Ungarn und zwar bei Rindern, Hunden, Katzen und Ratten beobachtet. In Deutschland ist über sie bis heute nichts bekannt geworden. Marek hat die Pseudowut in den Jahren 1902—1908 bei 94 Katzen und 25 Hunden auftreten sehen; neuerdings konnte er sie in einer Herde feststellen, in der binnen kurzer Zeit 8 Rinder daran zugrunde gingen.

Die hervorstechendste Krankheitserscheinung bei den von der Krankheit begriffenen Tieren ist eine außerordentliche Unruhe, ein unablässiges Reiben, Scheuern, Kratzen, Beißen und Nagen an einer bestimmten Körperstelle — bei den geimpften Tieren in der Regel an der Impfstelle —, ferner das Auftreten von Lähmungen im Bereich des Rachens und des Lokomotionsapparates. Die Krankheit nimmt meistens einen akuten Verlauf. Die Inkubationsdauer schwankt zwischen 36 und 96 Stunden, ausnahmsweise beträgt sie 5—8 und noch mehr Tage. Das Virus findet sich im Zentralnervensystem, im Blut und in den bluthaltigen Organen der kranken Tiere. Auch das Blutserum und der Harn ist, wie unsere Versuche ergeben haben, Virusträger, dagegen nicht die Galle. Berkefeldfilter vermag das Virus nicht zu passieren. In reinem Glyzerin konserviert, erhielt es sich 3 Monate[1]) lang infektionstüchtig. Gegen Fäulnis ist das Virus verhältnismäßig resistent; Material, das 25 Tage lang der Fäulnis ausgesetzt war und alsdann zur Impfung benutzt wurde, löste beim Kaninchen das typische Krankheitsbild aus, allerdings war die Inkubationsdauer wesentlich verlängert. Kurzes Aufkochen zerstörte das Virus. Seine Resistenz gegen Eintrocknen scheint gering zu sein; 10tägiges Trocknen in dicker und dünner Schicht machte es unwirksam.

Die Krankheit ist nicht kontagiös. Sie konnte verhältnismäßig leicht künstlich erzeugt werden. Am meisten empfänglich haben sich Kaninchen erwiesen, weniger Meerschweinchen, Ratten und Mäuse; auch auf Hunde, Schafe und Ziegen gelang die Uebertragung.

Die Differentialdiagnose gegenüber der echten Wut fällt sehr leicht:

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Selbst 8 Monate in Glyzerin aufbewahrtes Gehirnmaterial war noch virulent.



die kurze Inkubationsdauer, der rasche Krankheitsverlauf, das Fehlen der aggressiven Symptome, die Infektiosität des Blutes und verschiedener anderer Organe außer dem Gehirn und Rückenmark, sowie der Umstand, daß die subkutane Ansteckung gelingt und eine heftige lokale Reaktion hervorruft, sind für diese Krankheit charakteristische Merkmale.

Eine Reihe von Versuchen zwecks Nachweises des Erregers mittels der gebräuchlichen Kulturmethoden schlug fehl. Herr Dr. Ganselmayer ist zurzeit im Veterinärlaboratorium mit systematischen Untersuchungen über die Ursache der Krankheit beschäftigt. Er konnte im Gehirn der damit behafteten Tiere Körperchen finden, denen eine ätiologische Bedeutung zuzukommen scheint. Herr Ganselmayer wird über diese Untersuchungen und ihre Ergebnisse später nähere Mitteilung machen.

Gärtner (Jena) spricht zum Schluß den Wunsch aus, daß bei künftigen Tagungen die Redner sich kürzer fassen, vor allem nur das tatsächlich Neue vorbringen und frei sprechen, jedenfalls nicht ein mitgebrachtes Konzept vorlesen möchten. Er schließt mit einem Dank an die Institute, in deren Räumen die Tagung stattgefunden, und an die Leitung.

Anhang.

(Verspätet eingegangen, zu der Diskussion auf S. 133 gehörig.)

Ehrlich (Frankfurt a. M.) schildert in kurzen Zügen den weiten Weg, der zur Auffindung des Präparats 606 geführt hat. Dasselbe ist, trotzdem der Weg der Synthese vom Atoxyl ausgeht, chemisch demselben nicht mehr nahestehend.

Die folgenden Formeln zeigen die Konstitution des Präparats und die weitgehende Verschiedenheit vom Atoxyl:

AS = AS (zwei Benzolringe, je mit NH_2 und OH) = Dioxydiamidoarsenobenzol

AS(=O)(—OH)(—OH) (Benzolring mit NH_2) = Atoxyl

Die Wirksamkeit beruht auf der gleichzeitigen Anwesenheit des Arsenorestes As = As und der Amidooxygruppierung. Wie schon in früheren Vorträgen auseinandergesetzt, ist als das wirklich abtötende Agens der Arsenorest anzusehen, während die Nebengruppierungen die primäre Verankerung an die Parasiten veranlassen.

E. betont dann die Notwendigkeit, durch ausgedehnte Vorversuche, die in die besten Hände gelegt sind, genau die Gefahrchancen eines jeden neuen Mittels festzustellen.

Entsprechend diesem Programm ist es notwendig bei einem Mittel, das in den Handel gelangt, eine genaue Unfallstatistik zu geben. Dem Vortragenden ist entgegen der von Professor Hoffmann gemachten Angabe ein durch Arsacetin bedingter Todesfall nicht bekannt geworden.[1])

Was das Dioxydiamidoarsenobenzol anbetrifft, so sind mit Ausnahme eines einzigen, von Iversen mitgeteilten Falles, der eine an sonstigen schweren Organveränderungen leidende Rekurrenspatientin betraf, keine schweren Unfälle zu verzeichnen gewesen. Insbesondere sind auch keine Augenschädigungen gemeldet worden. Ich hoffe daher, daß der Einführung des Mittels nach dieser Richtung keine Schwierigkeiten sich entgegenstellen.

---

[1]) Nachträglicher Zusatz: Es hat sich später herausgestellt, daß eine Verwechslung mit Arsenophenylglyzin vorlag. Es handelt sich hier um ein Mittel, das nicht in den Handel gelangt ist, sondern nur an vereinzelten Stellen (in Deutschland zwei) ausprobiert wurde, die selbstverständlich über das Präparat aufs genauste orientiert waren. Eine Veranlassung, diesen Fall zu publizieren, lag also nach keiner Richtung hin vor.



Mitglieder-Liste

der

Freien Vereinigung für Mikrobiologie.

Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
1	Abel	Geh. Ober-Med.-Rat	Berlin	Kultusministerium
2	Altmann	Abteilungsvorsteher	Frankfurt a. M.	Städt. Hyg. Institut
3	Bail	Privatdozent	Prag	Hyg. Institut
4	Ballner	Privatdozent, Stabsarzt	Innsbruck	„ „
5	v. Baumgarten	Professor	Tübingen	Pathol. Institut
6	Beck	Reg.-Rat, Prof., Reg.-Arzt	Tabora	Deutsch Ostafrika
7	v. Behring	Wirkl. Geh.-Rat, Exz., Prof.	Marburg	Hyg. Institut
8	Besserer	Kreisarzt	Münster i. W.	Bakt. Untersuchungsamt
9	Biedl	Professor	Wien IX	Kinderspitalgasse 15
10	Bischoff	Ober-Stabsarzt, Professor	Berlin W 15	Hohenzollerndamm 2
11	Bitter	Professor	Cairo	Hyg. Institut
12	Bongert	Städt. Ober-Tierarzt	Berlin W. 50	Prager Str. 11
13	Bonhoff, H.	Professor	Marburg	Hyg. Institut
14	Březina	Priv.-Doz.	Wien	
15	Brieger	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Hydrotherapeut. Institut
16	Bruns	Professor	Gelsenkirchen	Institut für Hyg.
17	Bugge	Vorsteher	Kiel	Bakter. Institut f. Tierseuchen
18	Burri	Professor	Liebefeld b. Bern	
19	Bürgers	Privatdozent	Königsberg i. Pr.	Hyg. Institut
20	Casper	Privatdozent, Prof.	Breslau X	Matthizaplatz 21
21	Conradi	Professor	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
22	Czaplewski	Direktor	Köln a. Rh.	Städt. bakt. Laboratorium
23	Dammann	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Hannover	Tierärztl. Hochschule
24	Dieudonné	Professor, Min.-Rat	München	Min. d. Innern
25	Doerr	Regimentsarzt, Privatdozent	Wien IX	Bakt. Labor. d. k.k. Milit.-San.-Kom.
26	Dönitz	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
27	Doflein	Professor	München	Zool. Museum
28	v. Drigalski	Prof., Stadtarzt	Halle a. S.	
29	Dunbar	Professor	Hamburg	Hyg. Institut
30	v. Dungern, Freih.	„	Heidelberg	Institut f. Krebsforschung
31	Dürck,	„	Jena	Pathol. anat. Institut
32	Ehrlich	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Institut f. exper. Therapie
33	Emmerich	Professor	München	Hyg. Institut
34	v. Esmarch	Prof., Geh. Med.-Rat	Göttingen	„ „
35	Ficker	Professor	Berlin	„ „

Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
36	Findel	Stabsarzt	Friedenau	Isoldestr. 8
37	Finkler	Prof., Geh. Med.-Rat	Bonn	Hyg. Institut
38	Fischer	„ „ „	Kiel	„ „
39	Flügge	„ „ „	Berlin	„ „
40	Forster	Professor	Straßburg	„ „
41	Fränkel	Geh. Med.-Rat, Prof.	Halle a. S.	„ „
42	Friedberger	Professor	Berlin NW 7	Dorotheenstr. 34a.
43	Friedemann	Privatdozent	Berlin	Hyg. Institut
44	Frosch	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Tierärztl. Hochschule
45	Fülleborn	Stabsarzt, Prof.	Hamburg	Tropen-Institut
46	Gaffky	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
47	Gärtner	Geh. Hofrat, Prof.	Jena	Hyg. Institut
48	Gehrke	Vorsteher	Stettin	Städt. Gesundheitsamt
49	Ghon	Professor	Wien	Pathol. anatomisches Institut
50	Glage	Ober-Tierarzt, Prof.	Hamburg	Bakt. Station d. Veterinärw.
51	Gonder		Hamburg	Tropenhygienisches Institut
52	Gottschlich, E.	Sanitäts-Inspektor, Prof.	Alexandrien	
53	Grasberger	Professor	Wien	Hyg. Institut
54	v. Gruber	Geh. Hofrat, Prof.	München	„ „
55	Günther	Geh. Med.-Rat	Berlin SW	Kochstr. 57
56	Haendel	Stabsarzt	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
57	Hahn	Professor	München	Hyg. Institut
58	Hammerl	„	Graz	„ „
59	Hartmann	Privatdozent, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
60	Heim	Professor	Erlangen	Hyg. Institut
61	Heinze	Kreisarzt	Potsdam	Med. Unters.-Amt
62	Heymann	Privatdozent, Prof.	Berlin	Hyg. Institut
63	Heller	Privatdozent	Dresden A. 5	Sächs. Serumwerk
64	Helly	„	Prag	
65	Herr	Stabsarzt	Posen	
66	Hetsch	„	Berlin W	Nassauische Str. 9a
67	Hofer	Professor	München	Biologische Station
68	Hofmann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Leipzig	Hyg. Institut
69	Hoffmann	Stabsarzt, Prof.	Berlin	Kaiser Wilhelms-Akad.
70	Hoffman	Professor	Bonn	Klinik f. Haut- u. Geschlechtskrankh.
71	Hübener	Stabsarzt	Berlin	Garnisonlaz. 1
72	Hüne	„	Stettin	
73	Hüppe	Professor	Prag	Hyg. Institut
74	Jaeger	Generaloberarzt, Prof.	Koblenz	Triererstr. 15
75	Jakobitz	Stabsarzt	Karlsruhe	
76	Jakobsthal		Hamburg	Krankenh. St. Georg
77	Jochmann	Privatdozent, Prof.	Berlin	Rud. Virchow-Krankenhaus
78	Joest	Professor	Dresden	Tierärztl. Hochschule
79	Karlinsky	„	Sarajewo	
80	Kirchner	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Berlin	Kultusministerium
81	Kirstein	Kreisarzt	Stettin	Bakteriol. Untersuchungsamt
82	Kißkalt	Privatdozent, Prof.	Berlin	Hyg. Institut
83	Kister	Abteilungsvorsteher, Prof.	Hamburg	„ „
84	Kitt	Professor	München	„ „
85	Klemensiwicz	Privatdozent	Graz	„ „
86	Klimmer	„	Dresden	
87	Knauff	Prof., Geh. Hofrat	Heidelberg	
88	Koch, J.	Abteilungsleiter	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
89	Kolle	Professor	Bern	Hyg. Institut
90	Kossel	„	Heidelberg	„ „
91	Köttgen	Stadt- u. Kreisarzt	Dortmund	
92	Kraus	Professor	Wien	Serotherap. Institut
93	Krause	„	Bonn	Med. Pol.-Klinik
94	Kretz	„	Prag	Pathol. Institut

Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
95	Krumbein	Professor	Bern	Hyg. Institut
96	Kruse	"	Königsberg	" "
97	Küster	"	Freiburg i. Br.	" "
98	Kutscher	Stabsarzt	Berlin W 50	Eislebenerstr. 9
99	Landsteiner	Prosektor	Wien	Marienhospital
100	Lange	Privatdozent	Dresden	Hyg. Institut
101	Lehmann	Professor	Würzburg	" "
102	Lentz	Abteilungsvorsteher, Prof.	Berlin	Inst. für Infekt.-Krankheiten
103	Levy	Professor	Straßburg	Hyg. Institut
104	Liefmann	Privatdozent	Berlin	Rudolf Virchow-Krankenh.
105	v. Lingelsheim	Professor	Beuthen Ob.-S.	Hyg. Institut
106	Lockemann	Abteilungsvorsteher, Prof.	Berlin	Inst. für Infekt.-Krankheiten
107	Löffler	Geh. Med.-Rat, Prof.	Greifswald	Hyg. Institut
108	Lösener	Generaloberarzt	Magdeburg	
109	Löwitt	Professor	Innsbruck	Hyg. Institut
110	Lorenz	Obermedizinalrat, Prof.	Darmstadt	
111	Lühe, M.	Professor	Königsberg i. Pr.	Tragheimer Pulverstr. 4a
112	Maaßen	Regierungsrat	Dalem b. Berlin	Biologische Reichsanstalt
113	Martini	Oberstabsarzt, Prof.	Tsingtau	
114	Marx	Stabsarzt, Prof.	Frankfurt a. M.	
115	Mayer	Stabsarzt, Doz. f. Hyg.	München	Operationskursus
116	Meinicke	Vorsteher	Hagen	Bakt. Untersuchungsanstalt
117	Meyer	Abteilungsvorsteher	Bremen	Gesundheitsamt
118	Mießner	Professor	Bromberg	Kaiser Wilhelm-Institut
119	Morgenroth	"	Berlin	Pathol. Institut
120	Much		Hamburg-Eppendorf	
121	Mühlens	Oberstabsarzt, Prof.	Wilhelmshaven	Kaiserstr. 64 II.
122	Müller, Reiner	Privatdozent	Kiel	Hospitalstr. 34
123	" P. Th.	Professor	Graz	Hyg. Institut
124	" O.	Privatdozent	Königsberg i. Pr.	
125	Musehold	Generaloberarzt	Berlin	Kriegsministerium
126	Neißer	Professor	Frankfurt a. M.	Städt. Hyg. Institut
127	Neufeld	Professor, Regierungsrat	Berlin	Kaiserl. Gesundheitsamt
128	Neumann	Professor	Gießen	Hyg. Institut
129	Nietner	Oberstabsarzt, Prof.	Gr.-Lichterfelde	Sternstr. 13
130	Nocht	Professor, Med.-Rat	Hamburg	Tropenhyg. Institut
131	Noetel	Stabsarzt	Münster i. W.	
132	Olt	Privatdozent	Gießen	
133	Orth	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Pathol. Institut
134	Ostertag	Geh. Reg.-Rat, Prof.	"	Kaiserl. Gesundheitsamt
135	Otto	Stabsarzt, Prof., Privatdozent	Hannover	
136	Overbeck	Oberstabsarzt	Itzehoe	
137	Paltauf	Professor	Wien	Serotherapeut. Institut
138	Petruschky	"	Danzig	Städt. Gesundheitsamt
139	Pfeiffer, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Breslau	Hyg. Institut
140	" L.	Professor	Rostock	" "
141	Pfuhl	Generaloberarzt, Prof.	Berlin W	Corneliusstr. 4a
142	Pick	Professor	Wien	
143	Plehn	"	Berlin W 62	Kleiststr. 22.
144	Prausnitz	"	Graz	Hyg. Institut
145	Proskauer	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin	Städt. Untersuchungsamt
146	Prowazek		Hamburg	Tropenhyg. Institut
147	Raubitschek	Prosektor	Czernowitz	Pathol. Institut
148	Reichenbach	Professor	Bonn	Hyg. Institut
149	Renk	Geh. Ob.-Med.-Rat, Prof.	Dresden	
150	Römer	Professor	Marburg	Hyg. Institut
151	"	"	Greifswald	Augenklinik
152	Rosenthal	Privatdozent	Göttingen	Hyg. Institut
153	Roth	Professor	Zürich	" "



Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
154	Rubner	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Physiol. Institut
155	Rudolf	Privatdozent	Graz	
156	Ruge	Generaloberarzt, Prof., Privdoz.	Kiel	
157	Sachs	Professor	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
158	Seige	Oberstabsarzt	Thorn	
159	Selter	Privatdozent	Bonn	Hyg. Institut
160	Silberschmidt	Professor	Zürich	„ „
161	Sobernheim	„	Berlin	Städt. Untersuchungsamt
162	Schattenfroh	„	Wien	Hyg. Institut
163	Scheller	Privatdozent, Prof.	Breslau	„ „
164	Scheurlen	Ober-Med.-Rat	Stuttgart	
165	Schilling	Abteilungsleiter, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
166	Schlegel	Professor	Freiburg	Tierärztl. Institut
167	Schmitt	Direktor	Züllchow b. Stettin	
168	Schnürer	Professor	Wien	Tierärztl. Hochschule
169	Schottelius	„	Freiburg	Hyg. Institut
170	Schuberg	Reg.-Rat, Prof.	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
171	Schumburg	General-Oberarzt, Prof.	Straßburg	
172	Schütz	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin	Tierärztl. Hochschule
173	Spitta	Prof., Reg.-Rat	„	Kaiserl. Gesundheitsamt
174	Stempell	Professor	Münster i. W.	Nordstr. 34
175	Sternberg	Privatdozent	Brünn	
176	Sticker	Professor	Berlin	Chirurg. Klinik, Ziegelstr.
177	Tavel	„	Bern	Chirurg. Klinik
178	Tiede		Köln	Schlachthof
179	Titze	Reg.-Rat, Prof.	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
180	Tjaden	Professor	Bremen	Gesundheitsamt
181	Trommsdorf	Privatdozent	München	Hyg. Institut
182	Trautmann	Abteilungsvorsteher	Hamburg	„ „
183	Uhlenhuth	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
184	v. Vagedes	Oberstabsarzt	Danzig	
185	v. Wasiliewsky	Privatdozent, Prof.	Heidelberg	Inst. f. Krebsforschung
186	v. Wassermann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
187	Weber	Regierungsrat	Dresden	Sedanstr. 20
188	Weichardt	Privatdozent	Erlangen	
189	Weidanz	Kreisarzt	Bremen	
190	Weleminsky	Privatdozent	Prag	
191	Wernike	Geh. Med.-Rat, Prof.	Posen	Hyg. Institut
192	Wolff	Professor	Tübingen	„ „
193	v. Wunschheim	Privatdozent	Wien	Handelsministerium
194	Wyss	Professor	Zürich	Hyg. Institut
195	Zwick	Prof., Reg.-Rat	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt



Inhalt.



Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a. S.



Bericht über die 6. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin

vom 30. Mai bis 1. Juni 1912.

Schriftführer F. Neufeld (Berlin).

1. Tag. 30. Mai 1912 vormittags.

Geschäftliches.

Der Vorsitzende Gärtner (Jena) teilt mit, daß in der vorhergegangenen Ausschußsitzung satzungsgemäß zwei Mitglieder des Ausschusses ausgelost wurden, nämlich v. Gruber (München) und Nocht (Hamburg). Auf Vorschlag des Ausschusses werden dafür neugewählt Ostertag (Berlin) und v. Wassermann (Berlin), zum Vorsitzenden des Ausschusses wird Fischer (Kiel) gewählt. Zum Schriftführer wird an Stelle von Lentz (Saarbrücken), der wegen Fortzuges von Berlin von seiner Wiederwahl abzusehen bittet, Neufeld (Berlin) gewählt.

Der Ausschuß für das nächste Jahr besteht demnach aus Fischer (Kiel) als Vorsitzenden, Gärtner (Jena), Kirchner (Berlin), Kolle (Bonn), Ostertag (Berlin), v. Wassermann (Berlin) und Neufeld (Berlin) als Schriftführer.

Als Ort der nächsten Tagung wird Berlin gewählt.

Auf Antrag von Pfeiffer (Breslau) wird mit großer Mehrheit beschlossen, an Stelle des bisherigen § 4 der Satzungen zu setzen:

„Die Vereinigung tagt, falls die Versammlung über Ort und Zeit nicht anders bestimmt, am Montag, Dienstag und Mittwoch der auf die Osterwoche folgenden Woche in Berlin."

Auf Vorschlag des Ausschusses wird beschlossen, 500 M. für das Robert Koch-Denkmal in Berlin zu bewilligen.

Wissenschaftliche Sitzung.

Vorsitzender: Fränken (Halle).

I. C. Schilling (Berlin):

Ueber Immunität bei Protozoeninfektionen.

Bei den pathogenen Protozoen tritt das Phänomen der Immunität in sehr mannigfaltigen Formen auf. In einzelnen Fällen entsteht eine absolute Unempfindlichkeit des Wirtsorganismus gegen Reinfektionen innerhalb weniger Stunden, gleichsam mit einem Schlage; in anderen wieder bildet sie sich nur ganz allmählich aus und erreicht nie einen bedeutenden Grad. Für viele Protozoeninfektionen charakteristisch ist ein Gleichgewichtszustand zwischen Parasit und Wirt, der viele Jahre unverändert andauern kann. Alle möglichen Uebergänge verbinden diese Typen. Die Immunität

bei Protozoenkrankheiten kann als eines der interessantesten Probleme der ganzen Pathologie bezeichnet werden.

Eine solche proteusartige Rolle vermögen die pathogenen Protozoen deshalb zu spielen, weil ihnen im hohen Grade die Fähigkeit der Anpassung an ihre Umgebung eigen ist. Auf der einen Seite begegnen wir zwar gerade bei den pathogenen Protozoen eine sehr exakte Einstellung auf bestimmte Wirte; so sind z. B. die Malariaparasiten auf kein anderes Wirbeltier zu übertragen. Auf der anderen Seite aber stehen den parasitären Protozoen vielerlei Möglichkeiten offen, um die Existenz der Art zu gewährleisten. Ich erinnere an die Umwandlung der Darmamöben in Cysten; der intrazellulären Leishmania auf künstlichen Nährböden in Flagellaten. Am weitesten geht wohl die Anpassung der pathogenen Protozoen unter der Einwirkung von chemischen Agentien, die bis zu der Ausbildung arzneifester Stämme fortschreiten kann. Hierin liegt eine wichtige Kompensation gegenüber den Schwierigkeiten, die durch den Generations- und Wirtswechsel bedingt sind.

Aber auch dem befallenen Organismus stehen Waffen zur Verfügung, mittels deren er das eingedrungene fremde Lebewesen unschädlich zu machen und auszuscheiden sucht. Wir werden deshalb vorerst diejenigen Faktoren zu berücksichtigen haben, mit denen Parasit und Wirt gegeneinander kämpfen. Aus dem wechselseitigen Spiel dieser Kräfte werden wir dann als Resultante eben jene verschiedenen Formen der Immunität abzuleiten versuchen.

Die Parasiten geben an die Körpersäfte Giftstoffe ab und wirken durch deren Vermittlung auf die Zellen des Körpers ein. Wir wollen für diese Stoffe die ganz allgemeine Bezeichnung „Toxine“ beibehalten, ohne aber damit deren Verwandtschaft mit den Bakterientoxinen betonen zu wollen.

Wir müssen unterscheiden zwischen paroxysmalen Toxinen, welche die subjektiven und objektiven Krankheitserscheinungen hervorrufen, und immunogenen Toxinen, die wir besser, da sie zur Entstehung von Antikörpern Veranlassung geben, als Immunoantigene bezeichnen.

Daß hier in der Tat ein Dualismus vorliegt, geht aus folgenden Ueberlegungen hervor. Bei der Spirosomose der Hühner treten unter dem Einfluß der sich rapide vermehrenden Parasiten die bekannten Krankheitserscheinungen auf, die wir als Reaktionen auf Ausscheidungsprodukte der Spirosomen auffassen. Uebersteht das Tier die Krisis, so tritt Heilung unter gleichzeitigem Verschwinden der Parasiten ein und das Tier ist immun. Töten wir aber die Spirosomen im Reagenzglas vorsichtig ab und spritzen wir diese Parasiten dem Huhne ein, so reagiert zwar das Tier nicht merklich darauf, aber es ist nach kurzer Zeit gleichfalls immun. Die Immunität ist also nicht an das Auftreten wahrnehmbarer Krankheitserscheinungen geknüpft; die Ursachen beider Reaktionen sind verschiedene. — Ein weiteres Beispiel liefert die Malaria. Wird eine Infektion nicht behandelt, so verläuft sie in einer langen Reihe von Paroxysmen, die allmählich an Stärke abnehmen und zu einer scheinbaren Heilung führen. Trotz schwerster subjektiver und objektiver Krankheitssymptome, also trotz wiederholter und intensiver Toxinwirkungen bedarf es einer langen Zeit, bis der Körper die Ueberhand über die Eindringlinge gewinnt. Daß es sich hierbei in der Tat um Giftstoffe handelt, geht aus den Versuchen von Leber hervor: abgetötete Trypanosomen, unter die Conjunctiva eines Kaninchens injiziert, rufen eine parenchymatöse Keratitis hervor. — Unsere Betrachtung hat sich ausschließlich mit den Antigenen zu beschäftigen, welche die Immunität auslösen.

Untersucht man ein frisch mit Trypanosomen z. B. der Nagana infi-



ziertes Tier, so wird man unter zahlreichen lebhaft mobilen Parasiten einzelne bemerken, die sich nur träge bewegen. Im gefärbten Präparat finden sich stets eine Anzahl von Parasiten, die man als pathologische Formen betrachten muß; es fehlt ihnen der Kern oder der Blepharoblast, ihr Protoplasma ist entweder ganz homogen oder dicht mit Granulis erfüllt. Sie weichen also mehr oder weniger stark von dem normalen Bild eines Trypanosoma ab, und man gewinnt den Eindruck, daß solche Formen nicht dauernd bestehen können, daß sie dem Untergang geweiht sind. Schon im ansteigenden Schenkel der Parasitenkurve kommen also Parasitenleiber zur Auflösung im Blutplasma. Diese im Plasma löslichen Leibessubstanzen der Parasiten stellen die Immunoantigene dar.

Die Frage, welche Rolle diese Leibessubstanzen der pathogenen Protozoen im Verlauf der Infektionen spielen, hat schon eine Reihe von Forschern lebhaft beschäftigt; ich nenne nur Kanthak, Durham und Blandford, Marchoux und Salimbeni, Uhlenhuth, Mannteufel, Neufeld und Prowazek, Levaditi, Lange, M. Mayer. Teichmann hat aus Sarkosporidienblasen starkwirkende Toxine dargestellt, doch ist der Einwand erhoben worden, daß es sich hier vielleicht auch um Bakterientoxine handeln könne, da diese Blasen eine ganze Flora verschiedener Bakterienarten enthalten. Neuerdings haben nun Teichmann und Braun gezeigt, daß man aus Trypanosomenleibern durch Trocknen wirksame Immunoantigene gewinnen könne, Referent war unabhängig davon zu dem gleichen Resultat gelangt, indem ich die Parasiten auf chemischem Wege abtötete. Solche Endoantigene pathogener Protozoen sind, bisher bei Spirosomen und Trypanosomen nachgewiesen; es ist aber sehr wahrscheinlich, daß sie auch in anderen pathogenen Protozoen vorhanden sind, nur ist ihr Nachweis bei diesen sehr viel schwieriger, da sie bisher noch nicht isoliert werden konnten.

Daß in der Tat auch bei dem normalen Verlauf der Protozoen-Infektionen Antigene in Wirksamkeit treten müssen, können wir indirekt daraus ersehen, daß sich bei den meisten nach einiger Zeit Antikörper im Blutserum nachweisen lassen. Der erste exakte Nachweis ist von Rabinowitsch und Kempner beim Trypanosoma Lewisi geführt worden. Kleine konnte sie im Verlauf der Naganainfektion, Nocard bei der Hundepirosomose Marchoux und Salimbeni bei der Hühnerpirosomose usw. nachweisen. Ihr Nachweis bei der Malaria konnte deshalb noch nicht geführt werden, weil wir nicht über das entsprechende Antigen verfügen.

Zum Nachweis der Antikörper stehen uns verschiedene Methoden zur Verfügung: in vitro agglomerierende und parasitizide Antikörper sind bei Spirosomen und Trypanosomen nachgewiesen. Durch den Tierversuch — gleichzeitige Injektion von Antiserum und Parasiten — gelingt es gleichfalls, ihr Vorhandensein zu erweisen. In einer ganzen Reihe von Fällen ist auch die Bordet-Gengou'sche Komplementbindungsmethode mit Vorteil herangezogen worden. All diese Reaktionen zeigen, daß die Antikörper nicht streng artspezifisch sind, daß z. B. ein gegen Dourine erzeugtes Immunserum auch gegen Nagana und Mal de Caderas schützt (Teichmann und Braun, Terry). Danach kann an der Antigen-Natur der aus dem Parasiten stammenden Leibessubstanzen kein Zweifel mehr sein.

Ein spezieller Fall dieser Antigenwirkung tritt dann ein, wenn wir, wie Ehrlich und seine Schule, Uhlenhuth, Mesnil, Laveran u. a. gezeigt haben, die pathogenen Protozoen im Tierkörper (Trypanosomen) auf chemotherapeutischem Wege abtöten. Tiere, auf diese Weise geheilt,



sind unempfänglich gegen eine Reinfektion. Hierbei ist es klar, daß der Ictus immunisatorius durch die freiwerdenden Körpersubstanzen der Parasiten ausgelöst wurde. Doch ist diese Immunität von äußerst variabler Dauer und individuell sehr ungleich. Eine praktische Verwendung z. B. gegen Nagana konnte sie bisher deshalb nicht finden, weil wir noch nicht über eine sichere Methode zur Heilung der Trypanosomeninfektion verfügen.

Uns interessieren hier nur diejenigen Antikörper, welche imstande sind, die Parasiten innerhalb des Körpers abzutöten. Die Wirkung dieser Antikörper ist bei manchen Protozoeninfektionen eine ganz außerordentliche. Bei der Rekurrensinfektion der Ratten z. B. wimmelt das Blut von Spirosomen und wenige Stunden später finden wir keinen einzigen Parasiten mehr. Es müssen also offenbar die Antikörper, welche die Krisis hervorrufen, mit katastrophenähnlicher Wucht in die Blutbahn hineingeworfen werden und eine hochgradig parasitotrope Wirkung haben.

Nicht selten tritt der Fall ein, daß Antikörper in nicht genügender Menge gebildet werden oder daß die paroxysmalen Toxine den Körper bereits so schwer geschädigt haben, daß er trotzdem zugrunde geht. Uebersteht aber der Körper den ersten Anfall, so eröffnet sich eine Reihe von Möglichkeiten.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse, wenn der Körper imstande war, so viel Antikörper zu bilden, daß alle Parasiten abgetötet werden, dann tritt spontane und völlige Heilung, Sterilisatio magna ein. Daran schließt sich eine Immunität, welche monate-, vielleicht jahrelang dauern kann. Für diesen extremen Fall haben wir nur zwei Beispiele: Beim Küstenfieber Südafrikas verschwinden die Parasiten vollständig aus dem Blut, so daß selbst die Transfusion von Litern von Blut auf gesunde Tiere oder die Uebertragung durch Zecken, die sich an solchen „gesalzenen“ Rindern vollsogen, keine Infektion mehr hervorruft. Dazu kommt noch, daß diejenigen Formen, welche im Blute während des Anfalls zirkulieren, Geschlechtsformen darstellen, nur für die Entwicklung in der Zecke bestimmt sind und sich nicht, wie bei der Malaria, in asexuelle Formen zurückverwandeln können. Energisch wirkende Antikörper sind von Koch und seinen Schülern bei gegen Küstenfieber immunisierten Rindern nachgewiesen; die gegenteilige Behauptung Theiler's gibt zu manchen kritischen Bedenken Anlaß.

Die zweite Form ist die Spirosomose der Hühner: auch hier vollständiges Verschwinden der Spirosomen nach der Krisis und Auftreten energisch wirksamer parasitizider Antikörper im Blutserum. Eine Ausnahme von dieser Regel bildet ein von Bouet gewonnener Stamm von Hühnerspirosomen vom Senegal, bei welchem es zur Entwicklung von Rezidiven kommt. In diesem Stamm ist eine Ueberleitung zu der zweiten Möglichkeit gegeben.

Es kann der Fall eintreten, daß zwar die meisten Parasiten durch die Antikörper abgetötet werden, daß aber einige, wenn auch schwer geschädigt, doch nicht vollständig absterben. Nach Ehrlich's Auffassung handelt es sich um solche, denen die Fähigkeit innewohnt, an Stelle der von den Antikörpern besetzten Rezeptoren neue (Nutrizeptoren) zu bilden. Danach tritt der eigentümliche Zustand ein, daß gleichzeitig Parasiten und Antikörper im Blute enthalten sind.

Dieser Zustand der labilen Infektion ist für viele Protozoen sehr charakteristisch, ich bezeichne ihn deshalb als labil, weil es nur einer geringen Störung des Gleichgewichts zwischen Parasit und Wirt bedarf, um jenem das Uebergewicht zu geben, so daß ein Rückfall, unter Umständen mit



tödlichem Ausgange, eintritt. Am reinsten tritt dieser Zustand bei den Pirosomosen hervor, speziell beim Texasfieber. Bei der Malaria, den Trypanosomeninfektionen und der Syphilis haben wir nur ausnahmsweise Gelegenheit, ihn zu beobachten, nämlich dann, wenn nach längerer symptomloser Periode infolge etwa einer interkurrenten Erkrankung ein Rezidiv auftritt.

Dieser Zustand kann vielleicht so erklärt werden, daß die Parasiten keine Antigene mehr bilden, oder auch dadurch, daß die vom Körper gebildeten Antikörper die Vermehrung der Parasiten fast ganz unterdrücken. Zurzeit sind wir in dem Mechanismus dieses Zustandes noch viel zu wenig eingedrungen, um die jedenfalls sehr komplizierten Verhältnisse richtig deuten zu können. Daß aber solche Parasiten nicht avirulent geworden sind, läßt sich leicht durch Ueberimpfung auf empfängliche Tiere beweisen, die stets von einer deutlichen Erkrankung gefolgt ist.

Eine Tatsache, welche nach meiner Auffassung bisher noch zu wenig beachtet worden ist, ist die, daß mit der labilen Infektion auch eine Unempfänglichkeit für Superinfektionen verknüpft ist. Wenn z. B. Rinder auf einer mit Texasfieber durchseuchten Weide diese Erkrankung überstanden haben und Parasitenträger geworden sind, so bieten sie dauernd eine Infektionsgelegenheit für die auf der Weide lebenden Zecken und werden selbst wieder durch deren Stiche ständig neu infiziert. Trotzdem erkranken sie nicht merkbar, erscheinen vielmehr vollkommen gesund. Besäßen sie keine Immunität gegen solche Superinfektionen, so müßten sie natürlich ständig unter Rückfällen der Pirosomose leiden. Aehnlich liegen die Verhältnisse bei der Malaria. Die erwachsenen Einwohner tropischer Malaria-Gebiete erfreuen sich einer weitgehenden Unempfindlichkeit. Neuere Untersuchungen (mit der Methode der sog. „dicken Tropfen") machen es wahrscheinlich, daß zum mindesten ein großer Teil dieser Personen noch Malariaparasiten im Blute beherbergt, daß also auch hier keine Immunitas sterilisans vorliegt, sondern eine labile Infektion, die eine Immunität gegen Superinfektionen bedingt. Nach den Untersuchungen von Neißer und seinen Mitarbeitern über die experimentelle Syphilis der Affen ist es sehr wahrscheinlich, daß auch hier die Unempfindlichkeit dadurch bedingt ist, daß die Krankheitserreger noch lange Zeit latent im Körper vorhanden sind. Einen indirekten Beweis konnte ich bei einem vor etwa 1½ Jahren mit *Pirosoma canis* infizierten Hunde erbringen. Bei diesem Tier war die Infektion erloschen, sein Serum schützte nicht mehr gegen die Infektion mit virulentem Material und der Hund selbst erkrankte auf die Reinfektion hin ziemlich schwer. Mit dem Erlöschen der labilen Infektion war also auch seine Immunität geschwunden.

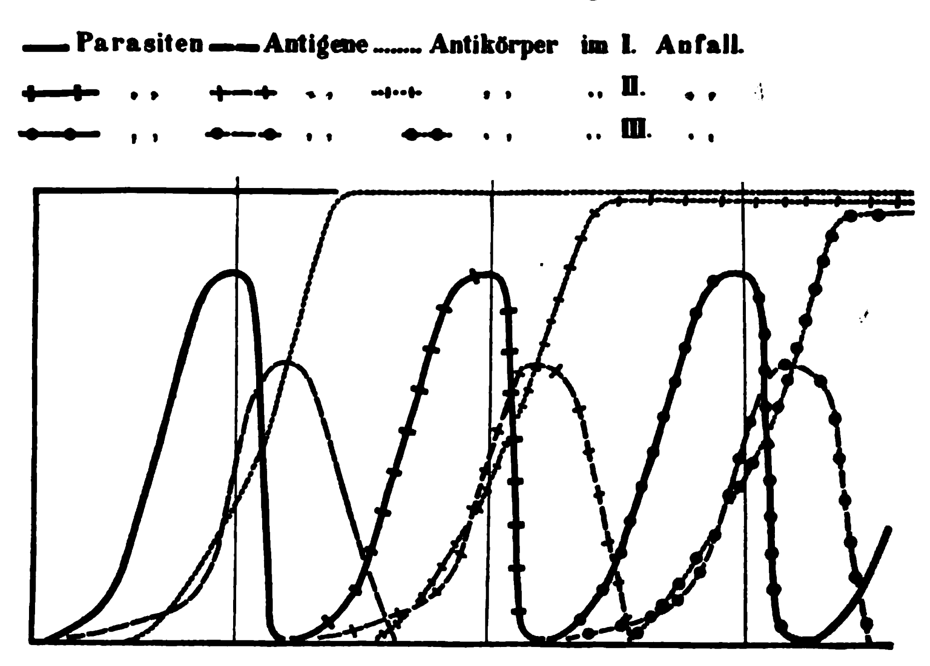
Offenbar ist es notwendig zur Erhaltung der einmal erworbenen Resistenz, daß ständig neue Superinfektionen erfolgen. In Gegenden, wo die Malaria nicht das ganze Jahr hindurch herrscht (Saisonmalaria), kommt ein nennenswerter Grad von Immunität nicht zur Entwicklung; dies ist z. B. in Italien der Fall.

Die Tatsache, daß Parasitenträger gegen Superinfektionen unempfänglich sind, ist schon praktisch verwertet worden. Bei der Hämoglobinurie der Rinder in Deutschland z. B. wird jetzt vielfach die Schutzimpfung nach Kossel und Schütz angewendet, die darin besteht, daß junge Tiere mit parasitenhaltigem Blut infiziert werden, daraufhin leicht erkranken und nun ohne Gefahr auf die durchseuchten Weiden getrieben werden können. Die



bisherigen Erfahrungen sind günstige, sie zeigen ferner, daß auch hier eine Wiederholung der Injektion die Resultate verbessert.

Während bei der labilen Infektion sich schon nach einem Anfall ein Gleichgewichtszustand zwischen Wirt und Parasit einstellt, wird bei der Rekurrens-Infektion des Menschen und der dafür empfänglichen Versuchstiere dieser Zustand schon nach wenigen Tagen wieder verschoben. Obwohl die Parasiten fast gänzlich verchwunden sind,



und sich energisch wirksame Antikörper gebildet haben, tritt trotzdem ein Rezidiv ein. Läßt man die nach der ersten Krisis im Serum vorhandenen Antikörper auf die Parasiten des Rezidivs einwirken, so erweisen sie sich als unempfindlich, als antikörperfest. Nach Ehrlich's Auffassung sind einige Parasiten der Wirkung der Antikörper entgangen, haben neue Rezeptoren gebildet und sich nun uneingeschränkt vermehrt. Auf die im Verlauf des Rezidivs von ihnen gebildeten Antigene (siehe die Kurve, 2. Abschnitt) reagiert nun wiederum der Körper mit der Entwicklung von Antikörpern II. Ordnung. So kann sich das Spiel noch mehrfach wiederholen, bis entweder der Körper unterliegt, da er nicht die genügende Menge von Antikörpern zu bilden imstande ist, oder bis die Parasiten ihre Fähigkeit, neue Rezeptoren zu bilden, erschöpft haben und völlig zugrunde gehen. In diesem Falle also tritt nach einigen Rückfällen vollkommene Sterilisation des Körpers ein; die darin anschließende Immunität scheint bei Rekurrens des Menschen nur einige Monate anzuhalten.

Eine vierte Möglichkeit endlich ist dadurch gegeben, daß die Parasiten eine sehr große, vielleicht eine unbeschränkte Zahl neuer Rezeptoren zu bilden vermögen, daß also neue Rezidivstämme entstehen können. Unter diesen Umständen verläuft die Krankheit extrem chronisch: Perioden normalen Befindens wechseln mit Rezidiven in langer Kette ab; schließlich folgt entweder Spontanheilung oder der Tod. Für den ersten Ausgang gibt es vielleicht einzelne Beispiele bei der Syphilis und der Malaria, für den letzteren bieten die Trypanosomeninfektionen zahlreiche Beispiele.

Meine Herren! Mit dem vorstehenden Referat habe ich Ihnen das Skelett der Lehre von der Protozoenimmunität dargestellt, in das sich die folgenden Vorträge und Diskussionsbemerkungen einfügen werden. Mit Absicht bin ich dabei sehr schematisch verfahren und habe eine Reihe interessanter Fragen nicht berührt. Nur eine möchte ich zum Schluß hervorheben, nämlich die über die Beeinflussung der antikörperfesten Rezidivstämme durch die Passage durch die übertragenden Insekten. Es ist von höchster theoretischer und vor allem praktischer Bedeutung, ob dadurch, daß die pathogenen Protozoen ihren Entwicklungskreis in ihrem natürlichen Wirt (dem blutsaugenden Insekt) vollenden, ihre biologischen Eigenschaften wesentlich beeinflußt werden. Von den Malariaparasiten wissen wir, daß sie sich in den verschiedenen Anophelesarten sehr ungleich entwickeln. Die Trypanosomiasis des Menschen scheint sehr verschieden zu verlaufen, je nachdem sie durch *Glossina palpalis* oder durch *Glossina morsitans* übertragen wird. Die Frage ist nun die: Werden die Rezidivstämme durch die Passage durch das übertragende Insekt wieder in „genuine" Stämme umgewandelt? Einen analogen Fall haben wir durch die Versuche Gonder's kennen gelernt, der zeigen konnte, daß ein arsenfester Stamm von *Trypanosoma lewisi* durch die Passage durch die Rattenlaus *(Haematopinus)* diese Festigkeit wiederum verliert.

II. E. Teichmann (Frankfurt a. M.):

Ueber Schutzimpfung gegen Trypanosomen.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, Antigene aus abgetöteten Trypanosomen zum Zwecke der Schutzimpfung zu gewinnen. Einige Autoren z. B. Uhlenhuth und Manteufel haben getrocknetes trypanosomenhaltiges Rattenblut verwandt. Andere z. B. Laveran und Mesnil, M. Mayer, Lange im Uhlenhuthschen Laboratorium und Schilling nahmen zur Antigendarstellung eine Reinigung der Trypanosomen von dem Blute vor. Das Wesentliche dieser Verfahren besteht darin, daß das trypanosomenhaltige, ungerinnbar gemachte Rattenblut zentrifugiert wird, so daß sich Trypanosomen, Blutkörperchen und Serum voneinander absetzen, worauf die Trypanosomen von Blutkörperchen und Serum möglichst befreit werden. Die weitere Verarbeitung gestaltet sich dann verschieden, indem die einen die Trypanosomen über Schwefelsäure oder im Brutschrank trocknen, die anderen sie in der Form von Aufschwemmungen verwenden. Die Ergebnisse, die mit den so gewonnenen Antigenen erzielt wurden, befriedigten jedoch die meisten dieser Autoren nicht.

Das von H. Braun und mir im Städt. Hygienischen Institut zu Frankfurt a. M. (Direktor: Professor Dr. M. Neisser) ausgearbeitete Verfahren lehnt sich an diese Methode an, unterscheidet sich aber von ihr in einigen für die Antigendarstellung nicht unwichtigen Momenten. Wir gehen so vor: Ratten werden auf dem Höhepunkt der Infektion verblutet. Das Blut wird in einer 10prozentigen Lösung von Natriumcitrat in physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen, der ein Rattenblut agglutinierendes Serum zugesetzt wird. Als solches benutzen wir ein Ka-



ninchen-Immunserum. Die Mengenverhältnisse sind dabei folgende: für jede Ratte werden 2 ccm Natriumcitratlösung + 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 0,1 ccm Kaninchenserum verwandt. Wenige Minuten nach dem Auffangen des Blutes ist der größte Teil der Erythrocyten zusammengeballt und zu Boden gesunken. Die überstehende Flüssigkeit wird abgesaugt und etwa 20 Minuten zentrifugiert. Dadurch werden die Trypanosomen in einer scharf abgegrenzten Schicht von den noch vorhandenen aber agglutinierten Blutkörperchen getrennt und darauf von diesen losgelöst, nachdem das überstehende Serum abgegossen ist. Die Trypanosomen werden nun nochmals in Kochsalzlösung gewaschen und dann in flachen Glasschalen im Luftstrom bei Zimmertemperatur getrocknet. Die Trockensubstanz wird zerrieben und stellt jetzt ein Pulver dar, das aus reiner Trypanosomensubstanz besteht. Dieses Pulver verwenden wir zur Immunisierung. Es wird zu diesem Zweck zunächst in Kochsalzlösung, dem wir ein kleines Quantum Toluol zufügen, aufgeschwemmt und etwa 1 Stunde geschüttelt; dann wird das Toluol durch Verdampfen im Luftstrom entfernt und die Flüssigkeit wieder auf das gewünschte Volumen ergänzt; in dieser Form wird das Vaccin schließlich den zu immunisierenden Tieren injiziert. Seine Desinfizierung mit Toluol ist bei Mäusen und Ratten unbedingt erforderlich, da hierdurch die Uebertragung von Bakterien aus dem trypanosomenspendenden Organismus und sekundäre Infektionen ausgeschlossen werden. Geht man in der beschriebenen Weise vor, so darf man darauf rechnen, daß während der Behandlung nur geringe Verluste an Tieren eintreten: Mäuse, Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen vertragen die wiederholte Injektion größerer Mengen ohne Schädigung; nur bei Kaninchen, denen wir zum Zweck der Immunserumgewinnung sehr große Mengen von Vaccin einverleibt haben, beobachten wir nach wiederholter intravenöser Injektion der Kochsalzextrakte anaphylaktische Erscheinungen, die aber bei intraperitonealer Einverleibung derselben Mengen ausblieben. Irgendein Toxin konnten wir weder im Nagana- noch im Dourine-Vaccin auffinden. Das von uns hergestellte Vaccin ist konservierbar und gestattet eine genaue Dosierung.

Mit solchem Vaccin haben wir die Immunisierungsversuche gemacht, über die nun kurz berichtet werden soll. Es standen uns 8 Trypanosomenstämme zur Verfügung, nämlich 2 Dourine-, 2 Nagana-, 2 Gambiense-Stämme, 1 Mal de Caderas- und 1 Congolense-Stamm. Diese Stämme wurden uns von dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, vom Reichsgesundheitsamt und vom Georg Speyerhaus freundlichst überlassen.

Was zunächst die aktive Immunisierung anlangt, so hat sich uns aus vielen Versuchen als am zweckmäßigsten ergeben, das Vaccin intraperitoneal zu injizieren. Subkutane Einverleibung empfiehlt sich nicht, weil an der Injektionsstelle leicht Verdickungen entstehen, die darauf hinweisen, daß das Vaccin mangelhaft resorbiert wird. Die Menge des zur Erzielung sicherer Immunität nötigen Antigens ist bei den verschiedenen Tierarten verschieden. Bei Mäusen, die ja schlechte Antikörperbildner sind, muß ein verhältnismäßig großes Quantum aufgewendet werden. Auch spielen hier individuelle Faktoren eine erhebliche Rolle. In einzelnen Fällen erzielten wir schon nach drei Injektionen von je 0,01 g, die sich in Abständen von 5 zu 5 Tagen folgten, sicheren Schutz gegen die nachfolgende Infektion; andere Tiere waren selbst nach 6maliger Einspritzung von je 0,01 g nicht dauernd geschützt. Um aber den dadurch bedingten Zufälligkeiten

möglichst aus dem Wege zu gehen, sind wir dazu übergegangen, Mäusen stets in fünftägigen Abständen 5mal 0,02 g, also im ganzen 0,1 g einzuverleiben. Da die Infektion auf der Höhe der Antikörperbildung also am 7. Tage nach der letzten Injektion vorgenommen wurde, nahm die Vorbehandlung etwa einen Monat in Anspruch. Zur Infektion benutzten wir, den natürlichen Verhältnissen entsprechend, geringe Mengen von Trypanosomen. Die Methode hat sich durchaus bewährt. Wir haben im Lauf unserer Versuche unter 118 nach ihr behandelten Mäusen nur 2 zu verzeichnen gehabt, die nicht dauernd immun blieben, dies sind also knapp 1,7 %. Alle anderen, also mehr als 98 %, waren dauernd geschützt, wie uns monatelange Beobachtung gezeigt hat.

Bei Ratten muß die Dosis erheblich größer genommen werden. Bei 5maliger Injektion von 0,04 g blieben von 8 Tieren 6 dauernd geschützt. Meerschweinchen konnten schon durch 4malige Injektion von 0,04 g sicher immunisiert werden; bei einem derartigen Versuch waren sämtliche 8 Tiere 86 Tage nach der Infektion vollkommen frei von Trypanosomen. Einen größeren Versuch haben wir schließlich noch mit Kaninchen gemacht. Wir behandelten 10 Tiere und injizierten jedesmal nach 5 Tagen 0,05 g Dourine-Vaccin, infizierten sodann intravenös am 5. Tage und zwar immer je 2 Tiere nach der ersten, zweiten, dritten, vierten und fünften Injektion. Nur 2 Tiere erkrankten und zwar eines das nur eine und eines das zwei Injektionen erhalten hatte. Danach schützt die 3malige Injektion von je 0,05 g, im ganzen 0,15 g, Kaninchen mit Sicherheit gegen die nachfolgende Infektion. Sämtliche 10 Kontrolltiere zeigten die typischen Erscheinungen der Dourine und wurden getötet, nachdem die Krankheit weit vorgeschritten war. Zur Immunisierung von Kaninchen braucht man also relativ viel weniger Antigen als bei Mäusen, Ratten und Meerschweinchen.

Auch über die Dauer der Immunität haben wir Erfahrungen gesammelt. Von Mäusen läßt sich sagen, daß sich bei der Mehrzahl die Immunität über 3 bis 5 Wochen hin hält. Wir haben im ganzen über 80 Mäuse nach Ablauf dieses Zeitraumes reinfiziert. 78 Prozent erwiesen sich als geschützt, 22 Prozent erkrankten und starben an Trypanosomen. Die Zahl der geschützten Tiere nimmt aber mit der Verlängerung des Zeitraumes, der zwischen erster und zweiter Infektion verstreicht, erheblich ab. Von 16 Mäusen, die nach etwa 1/4 Jahr zum zweiten Male infiziert wurden, blieben 6 gesund, 10 erkrankten. Doch überstand eine Maus die zweite Infektion, die der erste nach 1/2 Jahre folgte. Schließlich haben wir 18 Mäuse, die eine zweite Infektion überlebt hatte, zum dritten Male infiziert. Bei 12 dieser Tiere folgte die dritte Infektion der ersten nach 3 Monaten, bei 4 nach 4 und bei 2 nach 5 Monaten. Alle diese Tiere sind bisher nicht erkrankt. Von 8 immunisierten Meerschweinchen, die 86 Tage nach der ersten Infektion reinfiziert wurden, waren 2 Tiere 80 Tage danach noch frei von Trypanosomen, bei den anderen ließen sich während dieses Zeitraumes spärliche Parasiten im Blut nachweisen; nur eines dieser Tiere ist inzwischen an Trypanosomen zugrunde gegangen, während die Kontrolltiere schon am 47. bis 50. Tage mit reichlichen Trypanosomen verendet waren.

Wir haben auch zu ermitteln versucht, ob sich die antigenen Stoffe durch Kochsalzlösung aus der Trypanosomentrockensubstanz extrahieren lassen. Wir trennten demgemäß durch Zentrifugieren die flüssigen und die festen Bestandteile, nachdem die Suspension 1 Stunde geschüttelt worden war, und behandelten in der üblichen Weise eine Anzahl Mäuse mit der gewonnenen



Flüssigkeit, eine gleiche Zahl mit dem Rückstand. Es ergab sich, daß zwar ein Teil der antigenen Stoffe in Lösung geht, daß aber auch der Rückstand immunisierend wirkt. Die Kochsalzextrakte, die zur Injektion an sich geeigneter wären als die Suspension des Trockenvaccins, erwiesen sich also leider nicht als zweckmäßig. Andere Fraktionierungen haben wir bisher nicht versucht.

Die Möglichkeit sichere aktive Immunitäten zu erzielen, gestattete eine Prüfung der Spezifität der Trypanosomen. Es ergab sich, daß Mäuse, die mit Dourine-Vaccin vorbehandelt waren, nicht nur gegen Dourine, sondern auch gegen Nagana und Mal de Caderas geschützt waren; andererseits konnten wir mit Nagana-Vaccin nicht nur gegen Nagana, sondern auch gegen Dourine und Mal de Caderas immunisieren. Hieraus geht hervor, daß sich die drei genannten Trypanosomenarten in weitem Umfang antigen gleich verhalten. Wir versuchten auch mit Nagana-Vaccin gegen *Trypanosoma Gambiense* und *Trypanosoma Congolense* zu immunisieren. Das gelang nicht. Trotzdem darf hieraus nicht gefolgert werden, daß eine derartige Immunisierung unmöglich sei, weil die in Ratten und Mäusen gehaltenen Gambiense- und Congolense-Stämme infolge des chronischen Verlaufes der Erkrankung bei den genannten Tieren serumfest sind und durch ein von einem Ausgangsstamm gewonnenes Vaccin nicht beeinflußt werden können. Die Frage der Spezifität dieser beiden Trypanosomenarten bleibt also offen.

Wir benutzten unser Vaccin auch dazu, um von Kaninchen Immunsera zu gewinnen. Wir injizierten den Tieren zu diesem Zweck 4mal 0,2 g in Abständen von je 7 Tagen und verbluteten nach weiteren 7 Tagen. Um die Schutzwirkung solcher Sera zu prüfen, injizierten wir Mäusen absteigende Mengen und infizierten am folgenden Tage. Dieses Vorgehen ergibt nach unseren Erfahrungen die besten Resultate und ist der gleichzeitig mit der Injektion erfolgenden Infektion auch in der von Mesnil und Brimont vorgeschlagenen Modifikation, nach der Serum und Trypanosomen miteinander vermischt zur Einspritzung gelangen, vorzuziehen. Es ist hierbei ferner von Bedeutung, daß die Menge der jedesmal injizierten Trypanosomen möglichst gering und möglichst gleich ist; nur so kann die Reaktion mit der wünschenswerten Schärfe zum Ausdruck kommen. Aus vielen Versuchen hat sich übereinstimmend ergeben, daß der Titer der Trypanosomen-Immunsera niemals sehr hoch wird. Man darf zufrieden sein, wenn 0,5 ccm eines Serums Mäuse sicher schützen. Die Sera sind freilich nicht gleichwertig. Wir haben in einzelnen Fällen mit 0,25 ccm, ja sogar mit 0,1 ccm sicher schützen können; aber das sind Ausnahmen. Auch hier spielen individuelle Unterschiede der behandelten Tiere eine erhebliche Rolle. Im allgemeinen darf man aber mit großer Wahrscheinlichkeit darauf rechnen, daß durch Einverleibung von 1 ccm bei Mäusen ein sicherer Schutz erzielt wird. Für Ratten genügt dieses Quantum jedoch nicht.

Was die Spezifität der Trypanosomen betrifft, so bestätigten die Versuche, die wir mit passiv immunisierten Mäusen zu ihrer Prüfung anstellten, die bei aktiver Immunisierung gewonnenen Ergebnisse vollkommen. Auch hier zeigte sich die weitgehende antigene Gemeinsamkeit von Dourine, Nagane und Mal de Caderas. Daß aber in immunisatorischer Hinsicht Nagana und Dourine identisch sind, konnten wir durch Erschöpfungsversuche erweisen. Ein Dourine-Kaninchen-Immunserum wurde durch Naganatrypanosomen ebenso wie durch Dourine-Trypanosomen seiner Antikörper vollständig beraubt und büßte seine Schutzwirkung gegen Dourine gänzlich ein. Hier-



durch ist bewiesen, daß der Rezeptorenapparat der Trypanosomen der Dourine und der Nagana identisch ist, was wiederum darauf hindeutet, daß diese Trypanosomen derselben Spezies zuzurechnen sein dürften.

Die Ergebnisse aus unseren Versuchen über Schutzimpfung gegen Trypanosomen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Mit dem aus getöteten und getrockneten Trypanosomen hergestellten Vaccin lassen sich Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen aktiv immunisieren.

2. Die Immunität kann bei Mäusen und Meerschweinchen ein Viertel Jahr, in selteneren Fällen bis zu 5 und 6 Monaten bestehen bleiben.

3. Kochsalzextrakte des Vaccins bei der Immunisierung zu verwenden, ist nicht zweckmäßig.

4. In immunisatorischer Hinsicht besteht zwischen Nagana, Mal de Caderas und Dourine kein Unterschied.

5. Es lassen sich mittels des Trypanosomen-Vaccins Immunsera gewinnen, durch die passive Immunität erzeugt werden kann.

III. H. Braun (Frankfurt a. M.):

Ueber das Verhalten der Trypanosomen Antikörpern gegenüber.

Ich möchte mir erlauben im Anschluß an die Mitteilungen Teichmanns, der Ihnen über unsere Versuche betr. die Frage der aktiven Immunität gegen Trypanosomen berichtet hatte, über unsere Erfahrungen, die wir mit serumfesten Trypanosomenstämmen gemacht haben, einiges mitzuteilen. Wiewohl die Serumfestigkeit durch die Untersuchungen von Rouget, Laveran und Mesnil, Kleine und Möllers, Schilling, Martini, Franke, Levaditi, R. Neumann, insbesondere aber durch Ehrlich und seine Mitarbeiter bearbeitet worden ist, liegen doch systematische Untersuchungen über dieses interessante Phänomen nicht vor.

Wir haben eine besondere Sorgfalt der Herstellung unserer serumfesten Stämme geschenkt. Als einwandfrei haben wir folgende Methode der Herstellung serumfester Stämme gefunden: Die Antikörper, gegen welche die Stämme serumfest werden sollten, mußten einheitlicher Art sein. Daraus ergab sich, daß Sera erkrankter Tiere unbrauchbar sind, weil sie, wie wir aus den Untersuchungen von Laveran und Mesnil, Mesnil und Brimont wissen, verschiedenartige Antikörper enthalten können, (da in denselben sich spontan serumfeste Stämme und gegen diese gerichtete Antikörper bilden). Wir verwendeten deshalb stets nur mit abgetöteten Trypanosomen gewonnene, von Kaninchen hergestellte Immunsera. In der Tierart, in welcher die Trypanosomen an die entsprechenden Antikörper gewöhnt werden sollen, muß aus demselben Grunde die Infektion akut verlaufen, Deshalb ist für diesen Zweck nur die Maus oder Ratte brauchbar, in der es wegen des raschen Infektionsverlaufes während der Krankheit zu Antikörperbildung nicht kommt. Wir gingen z. B. folgendermaßen vor: Von einem Dourinestamm, der bereits jahrelang nur in Mäusen und Ratten gezüchtet war, wurde ein Trockenvaccin hergestellt und damit Kaninchen vorbehandelt.



Sieben Tage nach der vierten Injektion von 0,2 g wurde das Kaninchen entblutet und Serum gewonnen. Dieses wurde bei 56° inaktiviert und im passiven Schutzversuch an Mäusen gegen den homologen Stamm austitriert. Werden Mäusen von einem solchen Serum Mengen einverleibt, die nicht einen vollständigen Schutz, sondern nur eine Verzögerung in dem Ausbruch der Krankheit hervorrufen, so ist der Stamm, der sich dann entwickelt und zur Vermehrung gelangt, gegen diese Antikörper widerstandsfähig, serumfest geworden.

Zur Entwicklung der Serumfestigkeit genügt, wie Ehrlich und Levaditi gezeigt haben, schon ein kurzdauernder Kontakt mit Antikörpern.

Mit solchem kaninchenserumfesten Stamm stellten wir uns ein Trockenvaccin her und immunisierten mit demselben einerseits Mäuse, andererseits Kaninchen. Die Prüfung der Immunität der Mäuse ergab, daß die mit dem kaninchenserumfesten Stamm vorbehandelten Tiere nur gegen den serumfesten Stamm immun waren, nicht dagegen gegen den Ausgangsstamm. Umgekehrt verhielten sich die mit dem Ausgangsstamm vorbehandelten Mäuse. Wir haben hier also einen analogen Fall, wie ihn Ehrlich an Mäuse-Rezidivstämmen festgestellt hat. Der serumfeste Stamm ist in bezug auf sein antigenes Vermögen dem Ausgangsstamm gegenüber prinzipiell verschieden und verhält sich immunisatorisch wie eine artfremde Spezies. Aus unseren Versuchen geht außerdem noch hervor, daß die Erwerbung der Festigkeit gegen die Antikörper einer Tierart (bei uns des Kaninchens) gleichzeitig eine Serumfestigkeit ist gegen die Antikörper anderer Tierarten (in diesem speziellen Fall der Maus).

Für diese Tatsache können wir noch eine Reihe anderer Beispiele anführen. So ist z. B. ein rinderserumfester Naganastamm gleichzeitig auch widerstandsfähig gegen die Antikörper der Maus, der Ratte und des Kaninchens. Man muß auf Grund der Tatsache, daß die Umwandlung der Trypanosomen-Antigene für die eine Tierart gleichzeitig verknüpft ist mit der Veränderung für andere Tierspezies, den Schluß ziehen, daß die Antigene des Trypanosoma für diese Tierarten identisch sind.

Die immunisierten Kaninchen verhielten sich folgendermaßen: Die mit dem Ausgangsvaccin immunisierten Tiere lieferten ein Serum, daß Mäuse nur gegen den homologen Stamm schützte, dagegen nicht gegen den kaninchenserumfesten Stamm. Analog, aber in der Wirkung entgegengesetzt, verhielten sich Sera, gewonnen durch Vorbehandlung mit dem serumfesten Stamm.

Die Resultate dieser Versuche stehen im vollen Einklang mit dem bereits mitgeteilten aktiven Mäuseversuch und beweisen die absolute antigene Metamorphose des serumfesten Stammes. Diese prinzipiell wichtige Tatsache der antigenen Verwandlung serumfester Stämme, die von Ehrlich entdeckt worden ist, findet auch durch diese genaue und detaillierte serologische Untersuchung ihre Bestätigung: Da Sera, mit serumfesten Stämmen gewonnen, sich streng spezifisch verhalten und nur gegen den serumfesten Stamm, nicht gegen den Ausgangsstamm wirksam sind, so ist damit der Nachweis erbracht, daß zwischen serumfesten und Ausgangs-Stamm nicht nur quantitative Differenzen, in bezug auf die Antigene, sondern qualitative Unterschiede bestehen. Die Erlangung der Serumfestigkeit ist nicht nur verbunden mit einem Verlust der Empfindlichkeit



für Antikörper, sondern gleichzeitig verknüpft mit einer Bildung neuer Rezeptoren.

Wir wollen nun über die Infektionsversuche an immunisierten Kaninchen berichten: Werden die mit Ausgangsstämmen immunisierten Kaninchen einerseits mit Ausgangsstamm, andererseits mit serumfestem Stamm infiziert, so erkrankten nur die mit serumfestem Stamm Geimpften.

Anders können sich mit serumfesten Stämmen immunisierte Tiere verhalten, indem sie nämlich nicht nur gegen den serumfesten Stamm, sondern auch gegen den Ausgangsstamm immun sein können.

Diese interessante Tatsache hat in der chronischen Infektion und spontanen Antikörperbildung des Kaninchens ihren Grund. Entwickelt sich unter der Einwirkung der spontan gebildeten Antikörper derselbe serumfeste Stamm, gegen den das Tier immunisiert wurde, so überwindet es die Infektion.

Im Anschluß an diese Versuche möchten wir einige Worte über die Vererbung der Serumfestigkeit der Trypanosomen sagen: Ehrlich konnte an seinen Mäuse-Rezidivstämmen in Mäusen eine jahrelange Vererbung der Serumfestigkeit nachweisen. Unsere kaninchenimmunserumfesten Stämme verhielten sich anders. Die Serumfestigkeit hielt sich zwar ohne Serumeinwirkung eine ganze Reihe von Passagen in Mäusen, aber an zwei Stämmen konnten wir uns davon überzeugen, daß, wie Mesnil und Brimont, Neumann ebenfalls feststellen konnten, die Serumfestigkeit einmal erworben, nicht dauernd vererbt wird.

Sie stellt vielmehr einen Zwangszustand dar. Das Trypanosoma ist bestrebt, sich allmählich dieser ihm aufgezwungenen Veränderung zu entledigen und zum Ausgangsstamm, seinem physiologischen Ruhestadium, zurückzukehren. Man wird daher nicht fehlgehen, wenn man diese physiologische, ohne morphologische Aenderungen einhergehende Variation des Trypanosoma nicht als eine neu durch Mutation entstandene Art, sondern mehr als ein vorübergehendes, vielleicht sogar anormales Kunstprodukt ansehen wird.

Nicht unwichtig ist für die Theorie der Serumfestigkeit die mit einem rinderserumfesten Naganastamm von uns gemachte Erfahrung, der seine antigene Fähigkeit für Mäuse vollständig eingebüßt hatte, wiewohl er genau so gut sich in diesen vermehrte, wie sein entsprechender Ausgangsstamm. Er produzierte auch bei Rindern keine Antikörper und zeigte nur in einem von vier Kaninchen eine geringe schutzkörperproduzierende Fähigkeit.

Da uns mit nativen Ausgangsstämmen und mit serumfesten Stämmen erzeugte Sera zur Verfügung standen, prüften wir

1. ob unter der Einwirkung derselben Art von Antikörpern auf denselben Stamm derselbe oder verschiedene serumfeste Stämme entstehen;
2. ob durch ein mit serumfesten Stämmen hergestelltes Immunserum ohne Einfluß ist auf den entsprechenden Ausgangsstamm und
3. wie sich serumfest gewordene Stämme gegenüber ihrem homologen Serum verhalten.

Die Versuche lehrten uns, daß die unter der Einwirkung der Ausgangs-Antikörper aus demselben Trypanosomenstamm entwickelten serumfesten Stämme untereinander nicht identisch zu sein brauchen. R. Neumann hat im Morgenrothschen Laboratorium durch Heilung von Mäusen auf der Höhe der Infektion mit demselben Heilmittel zwei Mäuserezidivstämme erhalten, die bei der Immunitäts-



reaktion biologische Unterschiede zeigten. Wovon es abhängig ist, daß das Trypanosoma unter denselben Bedingungen einmal in der einen, das andere Mal in anderer Weise gegen die Wirkung derselben Antikörper reagiert, dies aufzuklären ist nicht möglich.

Analoge Resultate erhielten wir mit einem serumfesten Stamm, den wir unter der Wirkung des homologen Serums hielten, also unter Serum, das mit demselben serumfesten Stamm hergestellt worden war. Wir erhielten Stämme, welche unempfindlich geworden sind gegen das entsprechende Immunserum.

Da die Annahme nahe lag, daß der serumfeste Stamm bei Einwirkung der entsprechenden Antikörper wieder zu dem Ausgangsstamm, der er früher war, wird, wie dies auch Ehrlich in vielen Fällen beobachtet hat, und wir in einer anderen Versuchsanordnung gleichfalls finden konnten, so haben wir die so gewonnenen Stämme auch gegen Ausgangssera und gegen Kombination von beiden Serumarten geprüft. Die gewonnenen Rassen haben sich auch unter solchen Bedingungen als serumfest erwiesen, woraus der Schluß gezogen werden muß, daß in unseren Fällen eine Rückbildung des serumfesten Stammes unter Einwirkung seines homologen Immunserums zum Ausgangsstamm nicht erfolgt war, sondern wieder in eine andere serumfeste Modifikation überging.

Dagegen erleidet ein Ausgangsstamm unter einem Serum, das mit serumfestem Stamm hergestellt worden war, keinerlei Veränderung.

Auch auf einem anderen Wege versuchten wir über die Art und die Entwicklung der serumfesten Stämme etwas zu erfahren. Da beim Kaninchen und beim Rind eine chronische Infektion stattfindet und eine Antikörperbildung vor sich geht, so konnten wir durch die Untersuchung der verschiedenen Serumentnahmen auf ihre schützende Fähigkeit gegenüber den von uns künstlich hergestellten serumfesten Stämmen uns einen Rückschluß darauf erlauben, ob während der Infektion dieselben serumfesten Stämme auftreten, und wie sie zeitlich aufeinander folgen. Zu diesem Zweck infizierten wir Kaninchen mit serumfesten Stämmen und zwar absichtlich nicht mit Ausgangsstämmen, damit man auf die eventuelle Entstehung der Ausgangsstämme im infizierten Organismus prüfen kann. Solchen Tieren wurde dann in Abständen von je 7 Tagen 3mal nacheinander Blut entnommen und nach 4 Wochen wurden sie durch Verblutung getötet. Mit solchen Seris angestellte Versuche lehrten uns, daß in der ersten Woche nach der Infektion, oft auch noch in der zweiten, nur Antikörper nachweisbar sind, die gegen den zur Infektion dienenden serumfesten Stamm gerichtet sind, in der dritten, oft schon in der zweiten Woche aber Schutzstoffe auch gegen andere serumfeste Varietäten, und was besonders beachtenswert ist, gegen den Ausgangsstamm, von dem der zur Infektion dienenden Stamm herrührte, vorhanden sind. Daraus geht hervor, daß im infizierten Organismus nur in den ersten Tagen nach der Infektion eine Trypanosomenart in bezug auf das immunisatorische Verhalten kreist, daß aber mit dem Auftreten der Antikörper eine ganze Reihe antigen differenter Rassen gleichzeitig sich ausbildet. Bei frisch aus chronisch erkrankten Tieren auf Maus und Ratte überimpften Trypanosomen ist daher stets zu beachten, daß es sich dabei um eine Mischung von immunisatorisch differenten Flagellaten handeln kann.

Daß unsere Ausgangsstämme trotzdem immunisatorisch übereinstimmten, ist wohl nur darauf zurückzuführen, daß sie durch die jahrelange Fortzüchtung



in Mäusen ihre Serumfestigkeit verloren haben und zu Ausgangsstämmen geworden sind.

Die immunisatorische Identität der Trypanosomen der Nagana, Dourine und Mal de Caderas hat außer in den bereits von Teichmann mitgeteilten Versuchen auch darin ihren Ausdruck gefunden, daß die Sera der mit unseren Dourine- und Mal de Caderastrypanosomen infizierten Kaninchen und der mit Nagana infizierten Rinder in späteren Stadien der Erkrankung nicht nur gegen die verschiedenen Ausgangsstämme, sondern auch gegen die von uns künstlich hergestellten serumfesten Dourinestämme geschützt haben. Es geht daraus hervor, daß die serumfesten Stämme der Nagana-, Dourine- und Mal de Caderastrypanosomen sich entsprechen. Und außerdem muß man daraus den Schluß ziehen, daß die Entwicklung der Serumfestigkeit unabhängig ist von der Tierart, von der die Antikörper stammen; denn unter Rinder-Antikörpern entstanden aus dem Naganastamm dieselben serumfesten Stämme, die wir künstlich mit Kaninchenimmunserum aus Dourinestamm hergestellt haben.

Aus allen mitgeteilten Tatsachen geht hervor, daß man eine periodische, in ein Schema zu bringende Entwicklung der Serumfestigkeit nicht nachweisen kann. Wieviel serumfeste Rassen es geben kann, darüber können wir nichts aussagen. Ehrlich berichtet einem über fünf verschiedene mäuseserumfeste Stämme.

Wir besitzen ebenfalls eine Reihe von serumfesten Stämmen, die wir aber nicht alle untereinander verglichen haben. Von vier dieser Stämme konnten wir nachweisen, daß sie nicht nur von ihrem Ausgangsstamm verschieden, sondern auch untereinander different sind.

Kurz möchte ich noch auf das Verhalten der serumfesten Stämme im Reagenzglasversuch eingehen. Im Komplementbindungsversuch zeigt sich, daß sich eine Differenzierung zwischen Ausgang- und serumfestem Stamm im Reagenzglasversuch nicht bewirken läßt. Mit serumfesten Stämmen erzeugte Sera wirkten komplementbindend in derselben Stärke mit dem homologen serumfesten Stamm, wie mit dem entsprechenden Ausgangsstamm und ganz das gleiche Verhalten zeigten Sera, die mit dem Ausgangsstamm erzeugt waren. Es zeigen sich also prinzipielle Differenzen der Wirkung dieser Sera im Reagenzglas und im Tierkörper. Die schützenden und die komplementbindenden Antikörper sind nicht identisch. Das haben Levaditi und Mutermilch für die komplementbindenden und trypanolytischen Antikörper ebenfalls nachweisen können. Trotzdem kann man eine Parallelität in der Bildung beider feststellen, indem mit einem hohen komplementbindenden Titer ein ebensolcher der schützenden Antikörper einhergeht.

Da aber die Serumfestigkeit bei Komplementbindungsversuchen nicht die Fehlerquelle bietet, die sie im Schutzversuch für die Frage der Spezifität in sich schließt, so ist die Komplementbindung für diesen Zweck eine brauchbarere Methode als der Schutzversuch. Zwischen den Trypanosomen der Nagana, der Dourine und Mal de Caderas konnten wir in Uebereinstimmung mit unseren Versuchen an aktiv und passiv immunisierten Mäusen im Komplementbindungsversuch mittels der Bordet-Gengouschen Versuchsanordnung Artdifferenzen nicht nachweisen. Wir prüften auch, ob die Komplementbindungsmethode sich zur Diagnosestellung der Trypanosomenkrankheiten eignen würde. An erkrankten Kaninchen und Rindern konnten wir uns davon überzeugen, daß sich die Komplementbindung mit Trypano-



somenaufschwemmung für diagnostische Zwecke gut eignet und der Wassermannschen Reaktion darin überlegen ist, daß sie regelmäßig auftritt und frühzeitig, meistens schon eine Woche nach der Infektion nachweisbar ist.

Wenn wir die mitgeteilten Tatsachen kurz zusammenfassen, so ergibt sich folgendes:

1. Eine exakte Herstellung reiner serumfester Stämme besteht in der Gewöhnung der Trypanosomen an ein mit abgetöteten Trypanosomen gewonnenes Immunserum in einer Tierart, in der die Infektion akut verläuft (Maus, Ratte).

2. Die serumfesten Stämme zeigen sich antigen prinzipiell verschieden von ihren Ausgangsstämmen (Ehrlich).

3. Die Serumfestigkeit, die in einem Tier erworben wird, besteht auch gegenüber Antikörpern anderer Tierarten.

4. Die Serumfestigkeit braucht keine dauernd vererbbare erworbene Eigenschaft zu sein.

5. Unter dem Einfluß derselben Antikörperart entwickelt sich nicht immer derselbe serumfeste Stamm.

6. Die Trypanosomen der Dourine und Mal de Caderas zeigen im chronisch erkrankten Kaninchen und die der Nagana im Rinde (wie man aus den entstandenen Antistoffen schließen kann), die gleichen Arten serumfester Stämme. Sie sind also auch in dieser Hinsicht als identisch zu betrachten.

7. Die Art der Serumfestigkeit ist von der Tierspezies, unter deren Antikörper sie sich entwickelt hat, unabhängig. Rinderantikörper bewirken dieselben serumfesten Stämme, wie Kaninchenantikörper.

8. Im Komplementbindungsversuch läßt sich eine Differenzierung zwischen serum- und Ausgangsstamm nicht durchführen. Die Wirksamkeit der Immunsera im Reagenzglasversuch ist prinzipiell verschieden von der Wirksamkeit im Tierversuch.

9. Die komplementbindenden und die schützenden Antikörper sind also nicht identisch. Doch geht die Bildung beider parallel.

10. Die Komplementbindungsmethode bei Verwendung einer Trypanosomenaufschwemmung als Antigen ist für diagnostische Zwecke brauchbar.

IV. Lange (Dresden):

Zur Immunität und Chemotherapie bei Trypanosomen.

Nach dem umfassenden Referat von Herrn Schilling und den Vorträgen der Herren Teichmann und Braun werde ich mich hinsichtlich der Immunität bei Trypanosomen nur auf die kurze Schilderung einiger hierhergehöriger Beobachtungen beschränken, die ich bei chemotherapeutischen Studien der letzten Monate gemacht habe. Durch die Firma v. Heyden-Radebeul wurden mir eine Reihe von neuer Antimonverbindungen zur Prüfung auf ihre Wirksamkeit gegenüber Trypanosomen übergeben. Uhlenhuth hat wohl als erster schon vor Jahren den Arsen-Verbindungen entsprechende Antimonverbindungen herstellen lassen, deren

Prüfung durch ihn und seine Schüler, sowie durch Beck erfolgte. Ich selbst habe im vorigen Winter unter Herrn Geh.-Rat Uhlenhuths Leitung zwei Antimonverbindungen[1]) gegenüber Trypanosomen und Hühnerspirillen geprüft; diese beiden Verbindungen erwiesen sich als nahezu unwirksam bzw. zu toxisch.

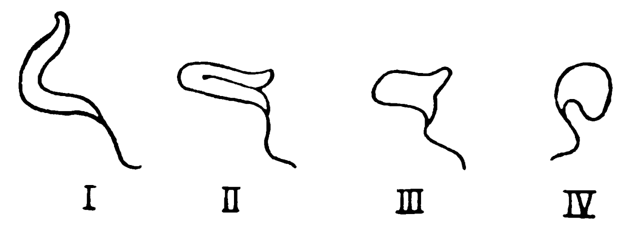
Von den v. Heydenschen neuen Verbindungen haben sich dagegen zwei und zwar das phenylstibinsaure Natron und das sog. Stibacetin als besonders wirksam erwiesen. Ich möchte hier nur über das letztgenannte Präparat berichten.

Das Stibacetin ist ein Na-Salz der Acetyl-p-aminophenylstibinsäure $C_3 . CO . NH \langle\rangle SbO(OH)_2$ und stellt ein genaues Analogon des Arsazetins dar, indem das fünfwertige As durch das fünfwertige Sb ersetzt ist. Das Salz enthält Kristallwasser; der Antimongehalt berechnet sich zu 35,5 Proz. Sb. Das Präparat ist blank und leicht in Wasser löslich; die Lösungen reagieren neutral und können, falls sie unter 10 Proz. Substanz enthalten, ohne trübe oder sonstwie geschädigt zu werden, aufgekocht werden.

Als Versuchstiere dienten mir ausschließlich Mäuse. Der verwandte Nagana- und Dourine-Stamm (aus dem Sächsischen Serumwerk, das den letztgenannten seinerseits von Herrn Geh.-Rat Uhlenhuth erhalten hatte) waren beide für Mäuse durch lange Passagen hochvirulent geworden.

Die Dos. let. des Stibacetins beträgt für Mäuse von 20 gr bei subkutaner Injektion, wenn in Aq. dest gelöst, 0,005—0,006, wenn in ClNa-Lösung gelöst, 0,008—0,010 gr.

Das Stibacetin wirkte nun im unmittelbaren Anschluß oder etwa 1/2 Stunde nach der Infektion gegeben in Dosen von 0,2 und 0,15 einer 1 proz. Lösung schützend. Für Heilung von hochgradigst infizierten Mäusen, mit größten Mengen von Trypanosomen im Blute, genügte die einmalige subkutane Injektion von 0,2—0,3 ccm der 1 proz. Lösung. Die Trypanosomen verschwinden im Laufe weniger Stunden aus dem zirkulierenden Blut. Bei der mikroskopischen Verfolgung dieses Vorganges machte ich eine Beobachtung, die ein Licht auf die Entstehungsweise der aufgeblähten, eckigen oder kugeligen Degenerationsformen der Parasiten wirft. Fünf Stunden nach der Injektion von 0,15 der Stibacetin-Lösung enthielt das Blut einer Maus 41 (Dourine) nur mehr mäßig zahlreiche Trypanosomen. Die Degeneration war erkennbar durch das Auftreten von Körnchen im Leibe der Trypanosomen. Die Bewegungen des Vorderendes sind krampfhaft peitschend, äußerst lebhaft. An einem Exemplar wurde genau beobachtet, wie sich dabei der vordere Teil bei starker Krümmung an den hinteren Teil längs anlegt, sich von ihm trotz heftigster Bewegung nicht mehr loslösen kann und schließlich mit ihm verschmilzt. Die einzelnen Stadien verliefen nach sofort aufgenommener schematischer Zeichnung wie folgt:



[1]) folgender Formeln: 1. $(C_6H_4.NH_2.HCl)_3SbCl_3$
und 2. $Sb(OH)(C_6H_3.NH_2.COONa)_2$.

Es liegt also dem Entstehen der Kugelformen ein Klebrigwerden der Membran zugrunde und keine, oder wenigstens nicht immer eine, Aufquellung durch endosmotische Vorgänge. Daß die Agglomeration durch Klebrigkeit der Membran bedingt sein muß, ist bekannt. — Bei den Versuchen habe ich weiterhin an einigen Mäusen das Vorhandensein eines wenn auch nicht absoluten, so doch sehr hochgradigen und zwar spezifischen Schutzes feststellen können durch gleichzeitige Injektion von Trypanosomen (i. p.) und dem Chemikale (s. c.). Vier Mäuse waren mit Nagana erstinjiziert worden. Nachdem eine Infektion nicht aufgetreten war, wurden 9 Tage später zwei davon mit Nagana und zwei mit Dourine nachinjiziert. Während die mit Dourine nachgeimpften Mäuse nach 4 Tagen einer schwersten Infektion erlagen, ging die eine mit Nagana nachgespritzte Maus erst am 11. Tage ein, die zweite sogar erst nach 4 Wochen. Bei der Sektion dieser letzteren wurden Trypanosomen nicht gefunden. (Bei der am 11. Tage verendeten Nagana-Maus war der Kadaver durch Glasgenossen bis auf unbrauchbare Reste aufgezehrt.)

Manteufel hat bei *Trypanosoma Lewisii*-Impfung zugleich mit Phenylglycin-Schutzbehandlung ebenfalls eine spezifische Immunität beobachtet.

Ich möchte diese Befunde gegenüber Braun und Teichmann, die ein völliges Uebergreifen der Immunität feststellten, ganz besonders betonen. Die bei Manteufels und meinen Beobachtungen vorhandenen Antikörper müssen also von denen Brauns und Teichmanns verschieden sein. —

Selbstverständlich habe auch ich bei der Injektion zu geringer Antimondosen die Entstehung antimonfester Stämme beobachtet. — Bei Mäusen, die schon in der Agone sind und unter Krämpfen auf der Seite liegen, versagte das Stibacetin selbst in sonst sicher wirksamen Dosen. Auf eine hiervon abweichende Beobachtung möchte ich aber etwas näher eingehen. Eine Maus war 2mal in 3tägigem Intervall mit Nagana (i. p.) und 0,3 ccm 1 proz. Stibacetinlösung (s. c.) injiziert worden. Zu einer Blutinjektion kam es nicht. Zehn Tage nach der zweiten Trypanosomen + Chemikale-Injektion wurde diese Maus mit Nagana allein infiziert. Sie zeigte wider Erwarten keine Spur eines spezifischen Schutzes, sondern nach weiteren 2 Tagen lag sie mit massenhaften Trypanosomen im Blute unter Krämpfen auf der Seite. Sie erhielt rasch 0,3 der Stibacetin-Lösung injiziert und sollte als Demonstrationsobjekt dafür dienen, daß in solchen Fällen das Präparat versagt. Die Maus erholte sich aber wieder völlig und ist seit mehreren Wochen frei von Trypanosomen. Man könnte hier vielleicht an einen durch die mehrmalige Vorbehandlung erzielten Schutz gegenüber den Endotoxinen der durch das Präparat gelösten zahlreichen Trypanosomen denken, während ein solcher Schutz bei zum ersten Male und erst im Stadium der Agone behandelten Mäusen nicht vorliegt. —

Schließlich möchte ich im Zusammenhang mit meiner Prüfung des Stibacetins zu einer Arbeit von Breinl und Nierenstein (Ann. Tropical. Med. 1909, 2) einige Bemerkungen machen. Diese Autoren behaupten, daß sie eine völlig dem Atoxyl entsprechende Antimonverbindung in Händen gehabt und mit ihr gute Erfolge erzielt hätten. Sie geben auch die Darstellung des p-aminophenylstibinsauren Na an.

Durch Percy May (Journ. of the Chemical Society Trans. 1911, 9. Part IV. S. 1382) ist den beiden Autoren schon entgegengehalten worden, daß auf die von ihnen mitgeteilte Weise (durch Einwirken von Anilin auf



Antimontrichlorid) kein derartiges Präparat erzielt werden kann. Im v. Heydenschen Laboratorium sind nun ganz jüngst die Breinl-Nierensteinschen Angaben nachgeprüft worden und es hat sich dabei, wie ich hier mitteilen darf, zur Evidenz erwiesen, daß diese Autoren nicht mit der gewünschten Verbindung gearbeitet haben können. Bei v. Heyden ist aber eine Synthese der gesuchten p-Verbindung: $NH_2 \langle \quad \rangle SbO_3HNa$ gefunden worden und der Prüfung dieses Körpers darf angesichts der guten Erfolge mit anderen Antimonpräparaten und der geringeren Giftigkeit des Sb mit Interesse entgegengesehen werden.

Diskussion zu I—IV.

Dold (Straßburg): Ich möchte zur Frage der Immunisierung gegen Trypanosomen einige Mitteilungen machen. Auf Veranlassung Uhlenhuths haben im Straßburger Institut die Herren Aoki und Kodama an Kaninchen, Ratten und Mäusen Versuche angestellt, gegen Dourine durch Vorbehandlung mit großen Mengen von abgetöteten Dourinetrypanosomen zu immunisieren. Die Tiere wurden mit formalinisierten Trypanosomenaufschwemmungen, welche nach der von Lange im Uhlenhuthschen Laboratorium ausgearbeiteten Methode gewonnen und den Herren in liebenswürdiger Weise von Dr. Lange zur Verfügung gestellt worden waren, vorbehandelt. Die Aufschwemmung hatte etwa dieselbe Dichtigkeitstrübung wie eine Aufschwemmung von 1 Oese Coli in 1 ccm Kochsalzlösung. Trotz 3—6 maliger in Intervallen von 5—6 Tagen erfolgender intravenöser und intraperitonealer Vorbehandlung mit ca. 1—3 ccm einer solchen Trypanosomenaufschwemmung gelang es nicht, die Tiere gegen eine nachfolgende Infektion mit lebenden Dourinetrypanosomen zu schützen.

Immunisierungsversuche mit getrocknetem Trypanosomenmaterial sind im Gange, doch kann ich darüber noch keine Mitteilungen machen.

Der auffallende Unterschied zwischen den Versuchsergebnissen der Herren Teichmann und Braun und Schilling einerseits und Aoki und Kodama andererseits scheint durch die für die Vorbehandlung benutzten verschiedenen Trypanosomenquantitäten bedingt zu sein. Wennschon die Herren Aoki und Kodama mit großen Mengen gearbeitet haben, so sind doch die der Herren Teichmann und Braun viel größer (0,01 g Trockensubstanz!).

Was die Anwendung dieser zuerst von Uhlenhuth und Woithe versuchten Methode der Immunisierung mit Trockensubstanz bei Spirochätenerkrankungen anlangt, so zeigen die Spirochäten ein sehr verschiedenes Verhalten: Während es leicht gelingt, durch Vorbehandlung mit relativ geringen Mengen von getrocknetem bzw. durch Antiformin aufgelöstem Spirochätenmaterial gegen die Hühnerspirillose zu immunisieren (Uhlenhuth und Mulzer), gelang mir eine Immunisierung gegen die Rekurrens bei Ratten nicht, obgleich ich ziemlich große Dosen (ca. 5 mg Trockensubstanz) zur Vorbehandlung benutzte.

Was das von Herrn Lange erwähnte Stibacetin anlangt, so ist dieses Präparat im Uhlenhuthschen Laboratorium ebenfalls an Spirochätenerkrankungen (Syphilis, Hühnerspirillose, Rekurrens) und an Trypanosomenerkrankungen erprobt worden. Das Präparat besitzt zweifellos eine gewisse Wirkung gegenüber der Syphilisspirochäte, der Hühnerspirochäte und gegenüber Trypanosomen. Doch ist es unseres Erachtens dem Atoxyl nicht gleichzustellen. So günstige Resultate wie sie Herr Lange erhielt, sind im Straßburger Institut nicht erzielt worden.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß in unserem Institut Herr Messerschmidt auch die Wirkung von zahlreichen Jodpräparaten auf die Hühnerspirillose geprüft hat. Er untersuchte im ganzen 18 Jodpräparate. Hiervon zeigte nur das Natrium sozojodolicum eine gewisse prophylaktische, aber keine kurative Wirkung.

Zwick (Gr.-Lichterfelde): Zu der Frage der Immunität bei Trypanosomenkrankheiten möchte ich folgenden Fall anführen: Eine Stute wurde am 16. September 1910 mit zehn Tropfen beschälseuchetrypanosomenhaltigen Mäusebluts + 10 ccm Kochsalzlösung intravaginal infiziert; 14 Tage später fand eine Wiederholung der Infektion in gleicher Weise statt. Nach weiteren drei Wochen konnten im Blute der infizierten Stute zum ersten Male Trypanosomen nachgewiesen werden; Krankheitserscheinungen stellten sich indessen bei



dem Tier nicht ein. Dies war auch nicht der Fall, als das Pferd 9 Monate nach der zweiten Infektion 20 Tropfen beschälseuchetrypanosomenhaltigen Rattenbluts + 10 ccm Kochsalzlösung in die Blutbahn eingespritzt erhielt. Eine weitere subkutane Infektion mit gleichem Material erfolgte im Januar dieses Jahres.

Trotz dieser wiederholten Infektionen blieb das Pferd andauernd gesund. Bei der klinischen Untersuchung des Tieres ließ sich keine Erscheinung finden, die darauf hindeutete, daß bei dem Pferd eine Beschälseucheinfektion vorliegt. Das Pferd würde demnach als immun gegen die in Frage stehende Krankheit zu bezeichnen sein. Die von Beginn des Versuchs an täglich vorgenommenen Temperaturmessungen haben jedoch intermittierende Temperatursteigerungen bis auf 40° C und darüber feststellen lassen. In dem Blute, das zur Zeit dieser 1—2 tägigen Fieberanfälle entnommen worden war, konnten durch den Mäuseversuch Trypanosomen nachgewiesen werden, zum letztenmal vor etwa 8 Tagen.

Dieser Fall zeigt, daß bei der Beurteilung der Immunität bei Trypanosomenkrankheiten Vorsicht geboten ist. Jedenfalls kann in dem geschilderten Falle nicht von Immunität gesprochen werden; hier handelt es sich vielmehr um eine latente Infektion. Watson, der sich in Kanada mit dem Studium der Dourine beschäftigt, hat unabhängig von uns, wie er mir mündlich mitteilte, durch das gleiche Verfahren wie das geschilderte bei verschiedenen Pferden eine „künstliche Immunität" erzeugt. Vor einer solchen Immunisierung ist jedoch zu warnen, da sie eine große Gefahr für die Weiterverbreitung der Krankheit in sich schließt.

Sodann möchte ich noch bemerken, daß wir eine Reihe von weiteren Versuchen zur Behandlung von Tieren, die künstlich mit Beschälseuche-Trypanosomen infiziert worden sind, unter Verwendung von Arsenophenylglycin angestellt haben. Die Behandlungsversuche wurden bei Kaninchen und Hunden als präventive und kurative vorgenommen, jedoch mit ungünstigen Ergebnis.

Mulzer (Straßburg): Wie Herr Dold Ihnen kurz soeben berichtet hat, haben Uhlenhuth und ich die Methode der Abzentrifugierung der Trypanosomen nach Lange auch bei der Hühnerspirillose verwendet. Es gelang uns auf diese Weise große Massen von Hühnerspirillen ohne Blutbeimengung zu erhalten und damit, besonders auch, wenn wir die Spirillen durch Antiformin auflösen, Hühner wirksam und sicher gegen die Hühnerspirillose zu immunisieren. Dagegen gelang es nicht, Kaninchen durch ein derartiges Vaccin gegen die Kaninchensyphilis zu immunisieren.

Uhlenhuth und ich haben die Langesche Methode auch zu verwenden gesucht, um die Spirochäten aus den Kaninchensyphilomen von ihrem mucinösen Medium zu trennen und in noch konzentrierterer Form zu erhalten. Hier versagte aber diese Methode. Wir haben daher die diesbezüglichen Immunisierungsversuche mit den ganzen Hodensyphilomen angestellt, die ja mitunter die Pallida geradezu in Reinkultur enthalten, und haben Kaninchen teils mit dieser pulverisierten Substanz, teils mit großen Mengen einer aus jenen Syphilomen hergestellten Spirochätenkochsalzaufschwemmung wiederholt (7—9 mal) vorbehandelt. Die Spirochäten wurden teils lebend eingespritzt, teils vorher mit Formalin, mit Karbol oder durch Hitze abgetötet oder durch Antiformin aufgelöst. Es gelang uns niemals, eine schützende oder therapeutische Wirkung weder durch das Vaccin selbst, noch durch das Serum dieser und anderer damit vorbehandelter Tiere (Affen, Ziegen und Pferde) auszulösen.

Braun (Frankfurt a. M.): Herr Lange konnte eine Spezifität der Trypanosomen im Gegensatz zu uns bei seinen Immunisierungsversuchen nachweisen.

Wir möchten nochmals betonen, daß wir nur positiven Befunden eine Beweiskraft zuschreiben können, da die Serumfestigkeit des verwendeten Stammes Artdifferenzen vortäuschen kann. Was die negativen Resultate der Immunisierungsversuche mit der nach Lange hergestellten Trypanosomenaufschwemmung betrifft, über die Herr Dold berichtet hat, so schließen wir uns seiner Deutung an, daß es sich um quantitative Differenzen des einverleibten Antigens wohl handeln wird. Nebst dem ist zu berücksichtigen, daß das beim Langeschen Verfahren verwendete Formalin das Trypanosomenantigen zerstören könnte.

Morgenroth (Berlin): Zu den Ausführungen des Herrn Lange möchte ich zunächst bemerken, daß die von ihm beobachteten Degenerationsformen der Trypanosomen, welche unter der Einwirkung seines „Stibacetins" entstehen, schon früher von Plimmer und Thomson, dann auch von mir und Halberstädter nach Einwirkung von Kaliumantimonyltartrat beobachtet worden sind. Es liegt also hier offenbar eine für mehrere Antimonverbindungen charakteristische Einwirkung auf die Trypanosomen vor, die ebenso auch

dem Brechweinstein zukommt, der, beiläufig bemerkt, erheblich wirksamer erscheint als das „Stibacetin“; während bei diesem die wirksame Dosis 0,1—0,2 einer 1 prozentigen Lösung beträgt, ist von Brechweinstein zu demselben Effekt nur etwa 0,1—0,3 einer Lösung 1:1000 erforderlich.

Herr Lange findet weiterhin, daß Mäuse, welche durch Stibacetin von einer Trypanosomeninfektion geheilt sind, gegen eine Neuinfektion immun sind, während dies nach Behandlung mit Atoxyl nicht der Fall ist. Hierin liegt sicher keine besondere Leistung des Stibacetins, denn dieselbe Eigenschaft kommt auch dem Brechweinstein zu, und nach meiner Erfahrung auch dem Arsacetin, so daß in dieser Hinsicht zwischen den beiden in ihrem Aufbau analogen Verbindungen des Arsens und des Antimons ein Unterschied zugunsten der Antimonverbindung keineswegs besteht.

Herr Lange beobachtete ferner, daß mit seinem Präparat eine Heilung der Mäuse in der Agone zunächst nicht möglich sei, wohl aber bei Mäusen, die nach mehrfacher Behandlung Rezidive erleiden und nun nahe daran sind, dem dritten Rezidiv zu erliegen. Ich glaube, daß man mit der Anerkennung solcher Beobachtungen äußerst zurückhaltend sein muß. Nach meinen Erfahrungen gelingt es bei Anwendung von Brechweinstein leicht, noch kurz vor dem Tode die Mäuse zu retten, wenn das Blut von Trypanosomen wimmelt und zwar auch bei frisch infizierten und noch nie behandelten Tieren. Der Erfolg hängt unter diesen Bedingungen sehr von der Dosis ab und von rechtzeitigem Eingreifen; eine Stunde früher oder später ist hier entscheidend, und vergleichende Versuche müssen deshalb mit größter Vorsicht beurteilt werden. Herr Lange glaubt, daß das Gelingen der Heilung in der Agone mit seinem Präparat beim Rezidiv darauf beruhe, daß hier eine Immunisierung der Tiere gegen die bei der Auflösung der Trypanosomen frei werdenden Toxine eingetreten sei, die andernfalls bei der erstmaligen Auflösung der Trypanosomen deletär sind. Diese Annahme erscheint mir ganz unhaltbar, denn erstens spricht dagegen der erwähnte Umstand, daß man nach meinen Beobachtungen mit Brechweinstein auch bei frisch infizierten Tieren, wo diese Toxinimmunität ja gar nicht in Frage kommt, noch in der Agone heilen kann, zweitens dürfen wir mit Toxinen hier überhaupt nicht rechnen, denn bis jetzt kennen wir, wie auch aus Herrn Schillings Referat hervorging, keine Toxine der Trypanosomen, folglich auch keine Antitoxine.

In den Vorträgen der Herren Schilling, sowie Teichmann und Braun sind Anschauungen und Beobachtungen über die fundamentalen Fragen der Protozoenimmunität mitgeteilt worden, wie ich glaube, zum Teil in einer der Wichtigkeit der Fragen kaum entsprechenden, allzu bescheidenen Form, so daß es wohl erlaubt sein dürfte, diese Dinge noch besonders zu unterstreichen.

Zunächst möchte ich auf die Entstehung der Antikörper bei der Trypanosomenimmunität zurückkommen. Herr Schilling ist der Ansicht, daß hier Antikörper mit einer außerordentlichen Schnelligkeit, schon im Laufe weniger Stunden, gebildet werden und im Blut erscheinen. Herr Schilling schließt sich der meines Wissens zuerst von Ehrlich geäußerten Anschauung an, daß bei der Heilung infizierter Mäuse durch trypanozide Mittel Antikörper sehr rasch auftreten, denn nach wenigen Stunden seien die Tiere nicht mehr infizierbar. Ehrlich geht noch viel weiter, denn er nimmt an, daß das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut unter dem Einfluß chemotherapeutischer Mittel unter Mitwirkung von Antikörpern zustande käme, die durch die Antigene der zuerst durch das chemotherapeutische Agens zerstörten Trypanosomen — also mit größter Schnelligkeit — ausgelöst würden.

Versuche, bei welchen die Nachinfektion mit Trypanosomen subkutan oder intraperitoneal erfolgt, lassen den Zeitpunkt des Auftretens der Immunität überhaupt nicht erkennen. Mir sind keine Versuche in der Literatur bekannt, die Aufschluß über diese Frage geben könnten, und ich habe deshalb schon vor längerer Zeit gemeinsam mit Dr. Rosenthal versucht, nach Abheilung einer Trypanosomeninfektion auf chemotherapeutischem Wege durch intravenöse Nachinfektion das Auftreten der Immunität zu bestimmen. Eine Fehlerquelle, die sich bei solchen Versuchen ergibt und die durch Kontrollversuche ausgeschaltet werden muß, ist die — z. B. beim Arsenophenylglycin recht langdauernde — Nachwirkung des chemotherapeutischen Agens. Günstig in dieser Hinsicht ist der von uns verwendete Brechweinstein. In den Versuchen läßt sich nun als Anzeichen des Eintretens der Immunität, also des Auftretens von Antikörpern ein rapides Verschwinden der eben in die Blutbahn injizierten Trypanosomen beobachten. Dies findet nach unseren Beobachtungen nie früher als 30 Stunden nach der Abheilung statt, und damit ist auch der früheste Termin gekennzeichnet, nach welchem experimentell Antikörper beobachtet werden können. Da die Abheilung durch den Brechweinstein nach wenigen Stunden beendet ist, wäre bei einer Beteiligung von Antikörpern an dem primären Verschwinden der Trypanosomen, auch wenn man zunächst ein Verschwinden der Antikörper durch Bindung an Trypanosomen



in Rechung zieht, ein früherer Nachweis derselben in der Blutbahn zu erwarten. Ich meine also, daß bis jetzt die von Herrn Schilling betonte ungewöhnlich rasche Entstehung von Antikörpern nichts weniger als bewiesen ist.

Daß eine „unbegrenzte Zahl von Rezidivstämmen", wie Herr Schilling meint, möglich ist, kann kaum bestritten werden. Ich möchte aber auch hier zur Vorsicht in der Voraussage mahnen, denn nach Versuchen von Ehrlich, Neumann und den hier mitgeteilten interessanten Beobachtungen von Herrn Braun liegt doch auch die Annahme durchaus nahe, daß nur ein begrenzter Zyklus von Rezidivstämmen im Bereich der Möglichkeit liegt, wenn man von einer bestimmten Trypanosomenart ausgeht.

Was nun die Mitteilungen der Herren Teichmann und Braun betrifft, so laufen sie vor allem auf eine Behauptung von außerordentlicher Tragweite hinaus, daß nämlich Trypanosomen verschiedener Spezies in Hinsicht auf die Immunitätsreaktion gleichwertig seien. Man darf hoffen, daß ein Befund von so großer prinzipieller Bedeutung, den die Herren Braun und Teichmann schon früher in kurzen Mitteilungen veröffentlicht haben, bald mit dem gesamten experimentellen Material mitgeteilt wird. Im allgemeinen ist bisher im Anschluß an Versuche von Halberstädter, Ehrlich, Browning und Böhl u. a. die Ansicht wohl die gewesen, daß die einzelnen Trypanosomenarten durch die Immunitätsreaktion voneinander zu trennen sind, und auch meine persönlichen Erfahrungen stehen mit dieser Anschauung im Einklang. Ob man sich den Anschauungen von Braun und Teichmann anschließen kann, wird sich erst auf Grund einer ausführlichen Mitteilung entscheiden lassen, denn man muß sicher sein, daß auf diesem so schwierigen Gebiet alle erkennbaren Fehlerquellen ausgeschlossen sind.

Herr Braun hat in einer kürzlich auf der Tagung der Deutschen tropenmedizinischen Gesellschaft gemachten Mitteilung bemerkt, daß ein quantitatives Arbeiten auf diesem Gebiete nicht möglich sei. Ich glaube aber, daß gerade dieses, um zu sicheren Schlüssen zu gelangen, unentbehrlich ist, und daß die Hindernisse, die sich in dieser Hinsicht in den Weg stellten, wohl darauf beruhten, daß die benutzten Sera nicht hochwertig genug sind. Ich verkenne die großen Schwierigkeiten nicht, welche bei der Gewinnung derartiger Antikörper bestehen, Schwierigkeiten, die offenbar auch den Vortragenden bei ihren Versuchen sehr in den Weg getreten sind. Die Mengen von Trypanosomen, welche zur Immunisierung nötig sind, sind ja außerordentlich große, wenn eine Maus 5 mal 0,02, also im ganzen 0,1 g Trockensubstanz zur Immunisierung erhalten muß. Selbst wenn man annimmt, daß die Trypanosomen 20 Proz. Trockensubstanz enthalten, entspräche dies 0,5 ccm reiner frischer Trypanosomensubstanz. Das ist eine Menge, die sicher viel größer ist, als die der im Blut befindlichen Trypanosomen, deren Zerstörung bei chemotherapeutischer Heilung zu einer Immunität der Mäuse führt. Auch die Versuche von Kudicke, der relativ sehr geringe Mengen frischen Trypanosomenmaterials Ziegen intravenös injizierte und auf diese Weise ziemlich wirksame Antikörper erhielt, erscheinen dem hier geübten Verfahren gegenüber im Vorteil. Man hat den Eindruck, daß bei der hier geübten Präparation der Trypanosomen eine erhebliche Beeinträchtigung der Rezeptoren und damit eine bedeutende Verringerung der immunisatorischen Brauchbarkeit des Materials eintritt. Gegenüber der Methode, welche durch Formaldehyd die Rezeptoren zerstört, erscheint Schillings Methode mit Auflösung durch Brechweinstein und die Methode von Braun und Teichmann ja als durchaus rationell gewählt. A priori ist man gewohnt, das Eintrocknen der Antigene als die allerschonendste Prozedur anzusehen; es scheinen aber hier ganz besondere Schwierigkeiten zu bestehen. Die Erschöpfungsversuche zum Nachweis der Identität der Antigene und Antikörper sind natürlich von Bedeutung; ich glaube aber auf Grund von Erfahrungen mit hämolytischen Ambozeptoren, auf die ich hier nicht näher eingehen kann, daß auch Bindungsversuche vielleicht eine andere Deutung zulassen.

Hahn (Freiburg): Die von Herrn Schilling angeführte verschieden lange dauernde Immunität der Mäuse nach chemotherapeutischer Behandlung läßt sich auch anders als durch individuelle Verschiedenheiten erklären, nämlich durch latente Infektion d. h. nicht völlige Abtötung der Protozoen durch die Behandlung in den Fällen, in denen die Immunität lange andauert. Auf Grund eigener Versuche muß ich vorläufig an der Ansicht festhalten, daß langdauernde Immunität bei Protozoenkrankheiten nur durch noch bestehende latente Infektion erzielt wird.

Händel (Gr.-Lichterfelde): Zu dem Referate des Herrn Schilling möchte ich kurz auf einige Versuche hinweisen, welche Dr. Tojoda in dem Laboratorium des Kaiserl. Gesundheitsamtes bezüglich des Verlaufs der Rekurrensinfektion bei Ratten und Mäusen mit Rezidiv- und gewöhnlichen Passagestämmen ausgeführt hat. Wird z. B. eine Rekurrens-



ratte während eines Rezidivs getötet und eine Maus mit dem Serum und dem Rezidivspirochätenstamm, eine zweite Maus ebenfalls mit dem Serum, aber zugleich mit einem gewöhnlichen Passagestamm geimpft, so ist der Verlauf der experimentellen Infektion bei den beiden Mäusen beträchtlich verschieden. Die Rezidivspirochäten treten trotz der Serumimpfung schon am nächsten Tage, die Spirochäten des Passagestammes erst nach 3, 4, selbst erst nach 8—9 Tagen oder noch später im peripheren Blute auf. Schickt man aber den Rezidivstamm durch eine oder mehrere Mäusepassagen und verimpft den Stamm dann erst wieder gleichzeitig mit Rezidivserum, so kann nunmehr auch der Rezidivstamm insofern ein anderes Verhalten zeigen, als er nicht mehr am nächsten Tage, sondern wie ein einfacher Passagestamm erst am 3.—4. Tage oder noch später im peripheren Blute nachweisbar wird. Im allgemeinen tritt allerdings bei den Rezidivstämmen auch nach häufigen Passagen keine nennenswerte Abnahme der Serumfestigkeit ein. Das Serum von Ratten, welche erst nach Ueberstehen eines Rezidivs getötet werden, ist wirksamer als das auf der Höhe des Rezidivs gewonnene Serum und kann das Hochkommen von Passage- und Rezidivstämmen völlig unterdrücken. In der Zeit zwischen den Anfällen ist das periphere Blut der Ratten keineswegs von Spirochäten frei. Man kann die zwar in der gewöhnlichen Weise nicht nachweisen, tötet man aber in dieser Zeit eine Ratte, so kann man mit ihrem Blute eine Maus erfolgreich infizieren, auch kann man eventuell schon einzelne Spirochäten durch Zentrifugieren des Blutes nachweisen.

Braun (Frankfurt a. M.): Was die Veröffentlichung unserer Untersuchungen betrifft, welche die entsprechenden Belege für unsere Behauptungen enthalten wird, so möchten wir darauf hinweisen, daß dieselbe in allernächster Zeit erscheint. Um nochmals auf die Spezifitätsfrage einzugehen, so möchte ich betonen, daß wir, um uns möglichste Sicherheit zu verschaffen, Stämme aus verschiedenen Instituten (Hamburger Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Kaiserliches Gesundheitsamt, Georg Speyerhaus in Frankfurt a. M.) zu unseren Versuchen benutzt haben. Da die Ergebnisse mit allen Stämmen untereinander übereinstimmten, so müssen wir eine immunisatorische Identität der drei Trypanosomenarten annehmen. Die Ergebnisse der Versuche an aktiv immunisierten Mäusen stimmen überein mit den Komplementbindungsversuchen, die wir mit Dourine- und Naganaimmunseris und mit Seris von Kaninchen, die mit unseren zwei Nagana-, zwei Dourine- und einem Mal de Caderasstamm infiziert waren, ausgeführt haben.

Ueber dieses sogenannte „unspezifische" Verhalten der Immunitätsreaktionen bei Trypanosomen (Agglomeration, Agglutination, Trypanolyse, aktive und passive Immunität, Komplementbindung) finden sich in der Literatur zahlreiche Mitteilungen. Ich möchte z. B. nur die Angabe von Therry erwähnen, der mit der Ehrlichschen Methode der Heilung von Mäusen auf der Höhe der Infektion mittels eines Chemikale zwischen den Trypanosomen der Dourine und des Mal de Caderas immunisatorische Gemeinsamkeiten feststellte.

Es ist merkwürdig, daß der eindeutige Ausfall der verschiedenartigen Immunitätsreaktionen bei Trypanosomen stets dahin gedeutet wird, daß diese Methoden, die doch zur Differenzierung von anderen Mikroorganismen z. B. Bakterien sich gut bewähren, zum Nachweis von Unterschieden bei den Trypanosomen unbrauchbar sind, während es unserer Meinung nach richtig wäre, zu folgern, daß eine weitgehende Gemeinsamkeit der Antigene bei Trypanosomen vorliegt. Quantitative Untersuchungen der Immunsera mittels der Komplementbindung haben keine Differenzen erkennen lassen.

Die Anfrage des Herrn Prof. Morgenroth, warum wir bei passiven Schutzversuchen zur Prüfung der Spezifität, nicht quantitativ gearbeitet haben, ist folgendermaßen zu beantworten. Die Resultate passiver Schutzversuche zeigen große Unregelmäßigkeiten; es erkranken z. B. in einem Titrationsversuch häufig Mäuse, die ein größeres Quantum Immunserum erhalten haben, während solche mit geringerer Menge geschützt bleiben. Außerdem kann man wohl verschiedene Sera gleichzeitig mit demselben Stamm titrieren, aber man muß vorsichtig sein, wenn man dasselbe Serum mit verschiedenen Stämmen prüft, da hierbei die Möglichkeit vorliegt, daß durch Virulenzunterschiede Artdifferenzen vorgetäuscht werden.

Wir messen daher dem Ausfall des mitgeteilten Erschöpfungsversuches ausschlaggebende Bedeutung zu. Was die praktische Brauchbarkeit unseres Trypanosomenvaccins betrifft, so haben weder Teichmann noch ich uns darüber geäußert, weil wir der Meinung sind, daß darüber keine theoretischen Erwägungen, sondern nur die Praxis entscheiden kann. Auch darf an einen Uebergang zur Praxis von den vorliegenden Versuchen aus nicht gedacht werden, ohne daß eine Reihe von wichtigen Fragen beantwortet ist, die nur in der Heimat der Trypanosomenkrankheiten in Angriff genommen werden können.

Daß wir sehr große Mengen von Vaccin zur Immunisierung von Mäusen benötigen,



ist richtig. Doch ist es nicht zulässig, daraus einen allgemeinen Schluß auf die Qualität des Vaccins zu ziehen. Die Immunität ist doch die Resultante aus der Wirksamkeit des Antigens und der Reaktionsfähigkeit des behandelten Organismus. Die Immunisierungserfahrungen an kleinen Laboratoriumstieren lassen die Maus als ein zur aktiven Immunisierung gegen bakterielle Infektionen, Toxine und Eiweißkörper ungeeignetes Tier erscheinen, während z. B. das Kaninchen ein guter Antikörperbildner ist. Dem entspricht die Tatsache, daß zur sicheren Immunisierung eines Kaninchens nur etwa dieselbe Menge unseres Vaccins nötig ist, wie zur Immunisierung einer Maus (0,15 g und 0,1 g). Und doch ist das Kaninchen hundertmal schwerer als die Maus.

Morgenroth (Berlin): Ich würde es außerordentlich bedauern, wenn Herr Braun aus meinen vorausgegangenen Diskussionsbemerkungen geschlossen hätte, daß ich die Richtigkeit seiner Versuche irgendwie in Zweifel ziehe. Mein Wunsch nach einer baldigen ausführlichen Mitteilung entspringt vielmehr ausschließlich der Anerkennung der hohen Bedeutung der Versuche von Braun und Teichmann, und es ist klar, daß man ein brennendes Bedürfnis fühlt, Befunde von so umwälzender Wirkung in ihren Einzelheiten kennen zu lernen, um auf Grund sorgfältiger Kritik ins reine zu kommen, ob man sich den Schlüssen anschließen kann oder nicht. Bezüglich der Rezidivstämme hat Herr Braun, wie ich glaube, die Arbeit meines Schülers Neumann nicht voll gewürdigt. Nach Braun und Teichmann besteht die immunisatorische Gemeinschaft nur zwischen den ursprünglichen Stämmen verschiedener Trypanosomenarten, nicht aber zwischen den Rezidivstämmen. Man kann sich aber dem Bedenken nicht verschließen, daß alle Trypanosomenstämme schon als Rezidivstämme in unsere Laboratorien kommen, denn sie entspringen schließlich alle mehr oder weniger chronisch mit Rezidiven verlaufenden Krankheiten der Haustiere und des Menschen. Wir dürfen deshalb von keinem unserer Stämme mit Sicherheit behaupten, daß er nicht ein Rezidivstamm sei. Was die Versuche von Terry betrifft, so glaube ich nicht, soweit ich mich ihrer hier erinnere, daß sie mit den Ergebnissen von Braun und Teichmann ganz im Einklang stehen. Wenn Herr Braun die großen Mengen Vaccin, welche notwendig sind, darauf zurückführt, daß Mäuse überhaupt schwer zu immunisieren sind, so kann ich mich ihm hier nicht ohne weiteres anschließen. Die Versuche von Ehrlich mit Abrin, die Versuche von Ritz mit Blutkörperchen und endlich die Immunisierung der Mäuse nach chemotherapeutischer Heilung sprechen nicht für seine Anschauung. Die Hauptursache der schwierigen Immunisierung dürfte meiner Ansicht nach eher in der großen Labilität der Rezeptoren der Trypanosomen gelegen sein, und ich bezweifle nicht, daß den Vortragenden auch noch eine weitere Vervollkommnung ihrer Methode gelingen wird.

Kolle (Bern) weist darauf hin, daß das Wort „Vaccin" allgemein seit Jenner-Pasteur für die lebenden abgeschwächten Infektionsstoffe reserviert ist. Deshalb ist für die abgetöteten Infektionsstoffe das Wort: Impfstoffe oder Antigen zu empfehlen.

Bezüglich der Serumfestigkeit und Passagestämme möchte ich bemerken, daß es notwendig ist, von einer Zelle auszugehen, wenn man sichere Schlüsse über Vererbung aus den Versuchen ziehen will.

Schilling (Berlin): Wesentlich ist, daß wir frische, „genuine" Stämme gewinnen, von denen wir ausgehen müssen. Formalinisierung zerstört das Antigen. Die Technik der Antigengewinnung ist noch sehr wohl verbesserungsfähig. Die Ergebnisse vergleichender Untersuchungen zwischen Trocken-Antigen und Brechweinstein-Antigen zeigten, daß beide ungefähr gleich wirksam sind.



V. K. Shiga (Tokyo):

Das ER-Lecithin als Antigen bei der Wassermannschen Reaktion.

Als Antigen zur W.-R. kamen verschiedene Substanzen zur Anwendung, wie z. B. Extrakt von der syphilitischen Leber, vom Meerschweinchen- und Rinderherzen, Lecithin, taurocholsaures Natrium, Cholestearin, Vaselin, Seife + Lecithin, Lecithin + Cholesterin usw. Wenn auch unter den genannten Extıakten der Extrakt der syphilitischen Leber theoretisch am geeignetsten sein mag, ist doch in praktischer Hinsicht eine reine und beständige Substanz, wenn nur diese ein konstantes Resultat gibt, vorzuziehen.

In unserem Institut zu Tokyo hat Prof. Terunchi reines Lecithin von Rinderherzen nach Erlandsen (ER-Lecithin genannt) dargestellt, um zu prüfen, ob diese Substanz als Antigen bei der W.-R. brauchbar ist.

Ternuchi stellte fest, daß die Lecithinpräparate des Handels sehr variabel an der wirksamen Substanz und leicht zersetzbar sind. Das ER-Lecithin ist dagegen, wenn es frisch dargestellt und nach dem geeigneten Austrocknen im Vakuum in Kapillaren eingeschlossen wird, ziemlich haltbar und gibt ein konstantes Resultat bei der W.-R.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß das Lecithin bei der vergleichenden Prüfung mit anderen Präparaten ein vortreffliches Resultat gibt, wurde dieses Präparat seit zwei Jahren von Dr. Hata, Dr. Yakisawa, Dr. Kanasugi, Marineoberstabsarzt Tachikawa und von mir in größerem Umfange zur Prüfung benutzt.

Die Vorversuche bestehen aus folgenden Reihen:

1. Das dargestellte ER-Lecithin muß in der Menge von 0,1 ccm einer 0,25 proz. Lösung weder Selbsthemmung noch Selbsthämolyse zeigen (Tabelle 1 und 2).

Tabelle 1. Die Prüfung der Selbsthämolyse des ER-Lecithins.

Nummer der Röhrchen	Lecithin 0,025 %	Kochsalz-Lösung		Hämolytisches System		Resultat
1	0,4 +	1,6[1])		1,0		0
2		1,0	1 Stunde	1,0	1 Stunde	0
3		1,0	im	1,0	im	0
4		1,0	Brut-	1,0	Brut-	0
5		1,0	schrank	1,0	schrank	0
6		1,0		1,0		0

[1]) Von dieser Mischung wird eine Hälfte abgenommen und in das zweite Röhrchen gebracht. Vom zweiten Röhrchen wird wieder eine Hälfte genommen und in das dritte gebracht usw.

Tabelle 2. Die Prüfung der Selbsthemmung des ER-Lecithins.

Nummer der Röhrchen	Lecithin 0,25 %	Kochsalz-Lösung	Komplement M-Serum (1:10)		Hämolyt. System		**Resultat**
1	0,4 +	0,6[1])	0,5		1,0		**stark**
2		0,5	0,5	1 Stunde	1,0	1 Stunde	**komplett**
3		0,5	0,5	bei	1,0	bei	,,
4		0,5	0,5	37° C.	1,0	37° C.	,,
5		0,5	0,5		1,0		,,
6		0,5	0,5		1,0		,,

[1]) Wie in der Tabelle 1.

2. Das dargestellte ER-Lecithin muß in der Menge von 0,05 ccm einer 0,25 proz. Lösung (oder 0,5 ccm einer 0,025 proz. Lösung) mit dem syphilitischen Serum eine deutliche Hemmung und mit dem gesunden Serum keine Hemmung zeigen (Tabelle 3).

Tabelle 3. Die W.-R. mit dem syphil. und nicht syphil. Serum.

Nummer der Röhrchen	Lecithin 0,25%	NaCl-Lösung	Serum (1:10)	Compl. (1:10)		Hämol. System		mit dem syphil. Serum	mit dem nicht syphil. Serum
1	0,4 +	0,6[1])	0.5	0,5		1,0		H	K
2		0,5	0,5	0,5		1,0		H	k
3		0,5	0,5	0,5	1 Stunde	1,0	1 Stunde	H	L
4		0,5	0,5	0,5	bei	1,0	bei	H	L
5		0,5	0,5	0,5	37° C.	1,0	37° C.	f H	L
6		0,5	0,5	0,5		1,0		K	L
7		0,5	0,5	0,5		1,0		k	L
8		0,5	0,5	0,5		1,0		L	L

H = komplette Hemmung
f H = fast komplette Hemmung
K = große Kuppe
k = kleine Kuppe
L = komplette Lösung

[1]) Wie in der Tabelle 1.

Den Ergebnissen dieser Vorversuche entsprechend brauchen wir immer 0,5 ccm einer 0,025 proz. ER-Lecithinlösung als Antigen. Die Lösung wird derart gemacht, daß eine Kapillare Lecithin (0,025 g) in 10 ccm aq. dest. aufgelöst wird (0,25 proz. Stammlösung). Diese Lösung hält sich im Eisschrank gewöhnlich nicht länger als eine Woche. Beim Gebrauch wird die Stammlösung mit einer 0,9 proz. Kochsalzlösung auf das Zehnfache verdünnt (0,025 proz. Lösung).

3. Die eigentliche Prüfung der W.-R. wird in der Tabelle 4 angegeben.

Das Blut wurde immer von der Kubitalvene mit einer Spritze abgenommen. Das ausgeschiedene Serum wird durch Erwärmen auf 56° C in 30 Minuten inaktiviert.

4. Die W.-R. mit dem gesunden und nicht syphilitischen Serum.

Die W.-R. bei 22 gesunden Fällen gab folgendes Resultat (Tabelle 5).

Tabelle 4. Die Prüfung der Wassermannschen Reaktion.

Serum in Röhrchen	Nummer der Röhrchen	Serum des Kranken	NaCl-Lösung	Lecithin 0,025 %	Kompl. 1:10		Hämol. System		Resultat
0,2	1	0,4 +	0,6[1])	—	0,5		1,0		L
0,1	2		0,5	0,5	0,5		1,0		H
0,05	3		0,5	0,5	0,5		1,0		f H
0,025	4		0,5	0,5	0,5		1,0		K
0,012	5		0,5	0,5	0,5		1,0		k
0,006	6		0,5	0,5	0,5	1 Stunde bei 37° C.	1,0	1 Stunde bei 37° C.	L
Kontrolle	a)		1,4	—	0,1		1,0		k
	b)		1,3	—	0,2		1,0		L
	c)		1,2	—	0,3		1,0		L
	d)		0,5	0,5	0,5		1,0		L
	e)		—	1,0	0,5		1,0		L
	f)		1,5	—	—		1,0		H

[1]) Wie in der Tabelle 1.

Tabelle 5. Die Wassermann-Reaktion mit gesundem Serum.

	Serummenge					
des Kranken	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
Fall 1	L	L	L	L	L	L
„ 2	L	L	L	L	L	L
„ 3	L	L	L	L	L	L
„ 4	L	L	L	L	L	L
„ 5	L	L	L	L	L	L
„ 6	L	H	f H	L	L	L
„ 7	L	L	L	L	L	L
„ 8	L	L	L	L	L	L
„ 9	L	L	L	L	L	L
„ 10	L	L	L	L	L	L
„ 11	L	L	L	L	L	L
„ 12	L	L	L	L	L	L
„ 13	L	L	L	L	L	L

Bei allen Fällen, ausgenommen einem Fall, war die Reaktion ganz negativ. Bei diesem einen Fall (Fall 6) ergab sich auch bei wiederholten Untersuchungen eine deutliche Reaktion. Es handelte sich um einen 16-jährigen Jungen, bei dem aber die Syphilisinfektion mit Bestimmtheit auszuschließen war. Auch wurde keine Milzvergrößerung konstatiert, aber es war unklar, ob er nicht einmal Malaria durchgemacht hatte. Auf Darmparasiten wurde leider nicht untersucht.

Es wurde dann mit dem Inhalt von durch Zugpflaster erzeugten Blasen von 57 typhusverdächtigen Kranken die Reaktion angestellt. Der Blaseninhalt war aber 3—4 Monate lang im Eisschrank aufbewahrt. Trotzdem war er zum größten Teil noch brauchbar; nur bei wenigen Fällen (im ganzen 7) erwies sich als unbrauchbar, weil 0,2 ccm davon im Kontrollröhrchen mehr

oder weniger Selbsthemmung zeigte. Aber er hat bei keinem Fall eine deutliche W.-R. gegeben.

5. Die W.-R. mit dem syphilitischen Serum.

Innerhalb eines Jahres (1911) wurden über tausend Prüfungen bei 515 Fällen angestellt. Das Serum wurde von verschiedenen Hospitälern und Kliniken zugesandt. In den meisten Fällen war die klinische Diagnose vorher nicht angegeben, so daß etwaige subjektive Beurteilung in der W.-R. vermieden wurde. Unter den geprüften Fällen kommen hier bloß 221 Fälle in Betracht, bei welchen die klinische Diagnose nachträglich angemeldet und keine Salvarsaninjektion vorher angewandt worden war. Es handelte sich um klinisch sichere Syphilis in 130 Fällen, klinisch zweifelhafte Syphilis in 91 Fällen, zusammen 221 Fälle.

Unter den klinisch zweifelhaften Fällen sind solche zusammengestellt, bei welchen die klinische Diagnose nicht ganz klar war (wie Tabes?, Syphilis III-Stadium? usw.), oder nur die symptomatische Diagnose (wie Schanker, Bubonen, Ausschläge, Haarausfall, Hirnblutung, Knochenverdickung, Geschwüre, Abortus usw.) angegeben worden war.

Tabelle 6. Gesamte Ergebnisse der Wassermann-Reaktion.

	W.-Reaktion in 0,1 Serum	positiv H	positiv f H	positiv K	positiv k	negativ L	positive Reaktion in %
Syphilis sicher	I. Stadium	3	2	—	4	4	69,2
	II. ,,	28	11	9	4	1	98,1
	III. ,,	27	4	10	5	2	95,8
	Metasyphilis	4	1	2	—	2	77,8
	Angeb. Syphilis	—	1	—	—	—	100,0
	Lat. Syphilis	1	1	2	2	—	100,0
Syphilis zweifelhaft	I. Stadium	1	—	2	—	4	42,9
	II. ,,	2	1	—	1	9	30,8
	III. ,,	4	1	4	3	11	52,2
	Metasyphilis	—	—	1	—	2	33,3
	Angeb. Syphilis	1	—	1	—	2	50,0
	Lat. Syphilis	3	1	—	1	6	45,5
	Syphil. verdächt.	6	1	7	2	14	53,3

Wie diese Tabelle zeigt, ergab sich unter 130 Fällen der klinisch sicher gestellten Syphiliskranken die W.-R. im ganzen bei 119 Fällen als positiv, und zwar im Primärstadium 69,2 Proz., im Sekundärstadium 98,7 Proz., im Tertiärstadium 95,8 Proz. und bei Metasyphilis 77,8 Proz. der Fälle.

Wenn man dieses Resultat unserer W-Prüfung mit den von anderen Forschern angegebenen vergleicht, ich weise z. B. auf die Tabelle, welche von Citron in seinem Handbuch zusammengestellt worden ist, hin, so sieht man sicher, daß das ER-Lecithin als das Antigen zur W.-R. ein vorzügliches Resultat gibt.



VI. Kolle (Berlin):

Chemotherapeutische Untersuchungen über die Wirkung organischer Quecksilberpräparate auf Spirochätenkrankheiten.

(Dieser Vortrag erscheint an anderer Stelle.)

VII. W. Kolle und M. Rothermundt (Bern):

Chemo-therapeutische Wirkungen der Hg-Verbindungen und im besonderen eines neuen, stark auf Spirochäten wirkenden organischen Hg-Präparat von sehr geringer Giftigkeit.

Anerkanntermaßen besitzen wir im Salvarsan ein stark spirochätentötendes Mittel. Da das Salvarsan zu gleicher Zeit für den Menschen relativ ungiftig ist, so stellt es mit Recht eines der wirksamsten Mittel zur Behandlung der Syphilis dar, das wir kennen. Selbst, wenn wir noch andere, gleich oder stärker wirkende Metallpräparate erhalten sollten, wird es immer als Antisyphiliticum benutzt werden können, z. B. in Kombination mit anderen Mitteln. Denn die Kombinationstherapie hat sich nicht nur bei Trypanosomeninfektionen bisher als die beste erwiesen, sondern sie ist auch der Syphilis gegenüber aussichtsvoll und erleichtet die Durchführung der Therapia magna sterilisans. Wie Ehrlich auf der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker in Freiburg i. Br.[1]) sagt, „ist es nicht nur notwendig, die Salvarsan-Therapie durch Quecksilberdarreichung zu unterstützen bzw. zu ergänzen, sondern es ist auch dringendster Wunsch, daß es gelingen möge, ein weiteres möglichst wirksames Quecksilberpräparat zu synthetisieren, weil dadurch der Kampf gegen die Syphilis auf das wirksamste unterstützt würde". Die Erfahrungen der Pharmakologen, so z. B. die von Bürgi bei der Kombination der Arzneimittel gefundenen Gesetze der Potenzierung der pharmakologischen Wirkung von Substanzen mit verschiedenen Angriffspunkten bieten weitere Gesichtspunkte für die Durchführung und die Zweckmäßigkeit der Kombinationstherapie. Das ist auch die Anschauung vieler Syphilidologen, die auf Grund praktischer Erfahrung zu dieser Auffassung gekommen sind; so z. B. Herxheimer, Plant, A. Neißer, Finger, Lesser, Jadassohn, Wechselmann, Weintraud, Hoffmann, Schreiber und viele andere.

Von diesen Gesichtspunkten aus haben wir uns seit mehreren Jahren systematisch mit der Untersuchung von Quecksilberpräparaten beschäftigt. Es war unser Bestreben, die chemo-therapeutische Wirkung der Quecksilberverbindungen und zugleich ihr toxikologisch-pharmakologisches Verhalten weiter aufzuklären und so den Chemikern Anhaltspunkte für die Darstellung neuer Quecksilberpräparate von stark spirochätentötender Wirksamkeit bei möglichst geringer Giftigkeit für den infizierten Organismus zu verschaffen. Wie wir bereits in einer früheren Arbeit auseinandergesetzt haben, nehmen sowohl die Pharmakologen und Toxikologen, wie die Syphilis-Therapeuten an,

[1]) Zitiert nach der Chemikerzeitung vom 6. Juni 1912.



daß die Quecksilberpräparate entsprechend ihrem Quecksilbergehalte wirken und zwar im Sinne der Ionisierung. Je mehr Quecksilber eine Verbindung in ionisierbarer Form enthält, so lautete die allgemeine Auffassung, um so stärker sollte nicht nur der pharmakologische bzw. toxische, sondern auch der therapeutische Effekt des Präparates sein. Einige Beobachtungen aus der Toxikologie sowie die bei der Behandlung der Syphilis gesammelten Erfahrungen sprachen allerdings dafür, daß auch bei den bisher bekannten Quecksilberverbindungen Unterschiede in der Wirksamkeit vorkommen, die nicht im Zusammenhang mit der jeweilen einverleibten Quecksilbermenge, sondern mit der chemischen Konstitution der Verbindung stehen. So wurden das Calomel und das Hydrargyrum salicylicum als die bei weitem wirksamsten Präparate fast allgemein hingestellt, wenigstens wenn sie nach dem Vorgange von Jadassohn intramuskulär injiziert werden. Wenn es allein auf den Quecksilbergehalt ankommen würde, so ließe sich ja auch mit anderen unlöslichen Präparaten, vorausgestzt, daß sie die gleiche geringe lokale Wirkung besäßen, der gleiche Effekt beim Menschen erzielen, sobald nur die gleiche Menge Hg einverleibt würde. Eine Einigkeit darüber, daß wirklich die chemische Konstitution der Quecksilberpräparate ausschlaggebend bezüglich der Wirkung der Verbindung im Sinne chemo-therapeutischer Effekte nach Ehrlich ist, konnte indessen bisher nicht erzielt werden. Es fehlten dazu wohl die exakten Unterlagen, die sich nur im Tierversuch gewinnen lassen. Diese Lücke auszufüllen war zunächst unser Bestreben, indem wir zur Feststellung der Wirksamkeit die Prüfung bei spirochäteninfizierten Hühnern heranzogen.

Es wurden die verschiedensten Quecksilberpräparate in bezug auf ihre Wirkung gegenüber der Hühnerspirillose untersucht und, zwar sowohl anorganische wie organische Präparate der aliphatischen Reihe, ferner die aromatischen Verbindungen, darunter die eiweißfällenden und nicht eiweißfällenden und endlich das Quecksilber in kolloidaler Form. Bei diesen Prüfungen wurden auch Präparate berücksichtigt, die erst in der letzten Zeit auf Grund der modernen Erfahrungen der Chemotherapie synthetisch dargestellt wurden. Hierher gehören eine organische Verbindung, ein Natriumsalz der Dinitromercuri-diphenyldicarbonsäure, die Ferd. Blumenthal auf Grund seiner Untersuchungen hat herstellen lassen.

NO_2 NO_2

—Hg—

COONa COONa

ferner das von |Schöller und Schrauth empfohlene und von A. Neißer u. a. geprüfte Asurol (eine Doppelverbindung vom Hg salicylic. und Amino-oxy-isobuttersaurem Natrium)

$H_2N.CH_2$ / H_3C > C(OH)—COONa . COONa / OH / HgOH



sowie endlich eine Anzahl organischer Verbindungen, bei denen das Hg durch Vermittlung einer Sulfaminogruppe an den Pyrazolonring gekettet war. Diese letztgenannte Verbindung wurde von E. Scheitlin auf Grund unserer Versuche hergestellt, wobei sich am wirksamsten ein Körper von folgender Konstitution erwies:

```
                          Hg                                      H
                         /                                       /
CH3—C ══════ C—N<                        H3C—C ══════ C—N<
    |         |    \                          |         |    \
    |         |     SO3H                      |         |     SO3Hg
    N         C=O                    H3C—N          C=O
   / \       /                             \        /
H3C   \     /                    resp.       \    /
        N                                       N
        |                                       |
    (C6H5)                                  (C6H5)
```

Unsere Hoffnung, daß wir durch die systematische Auswertung dieser Präparate bei der Hühnerspirochätenkrankheit, sowie durch die gleichzeitig ausgeführten Bestimmungen der Giftwirkungen bzw. Verankerungen an die einzelnen Organe weitere Gesichtspunkte für die Synthese neuer Verbindungen finden würden, hat sich nicht als trügerisch erwiesen.

Wir konnten feststellen, daß mit allen Quecksilberpräparaten, die wir untersuchten, sich eine Heilwirkung bei der Hühnerspriochätenkrankheit erzielen läßt. Die Wirkung tritt zwar langsamer ein als bei den Arsenpräparaten und kommt nur dann zustande, wenn die Injektion der Quecksilberverbindungen frühzeitig erfolgt, nämlich spätestens am 2. Tage nach der Infektion, aber wenn alle Präparate, die intramuskulär injiziert werden, jedes an einer größeren Anzahl von Tieren und vornehmlich in doppelten Versuchsreihen mit fallenden Dosen unter Heranziehung genügender Kontrollen geprüft und austitriert werden, so gelingt es, für jedes Quecksilberpräparat einen Grenzwert der Wirksamkeit bei der Hühnerspirillose festzustellen. Die Infektion der Hühner muß möglichst gleichmäßig gestaltet und mikroskopisch kontrolliert werden. Sobald durch das Mikroskop die Infektion sichergestellt werden konnte, erfolgte nun bei jedem Huhn nur eine einzige Injektion des zu prüfenden Präparates. Der weitere Verlauf der Krankheit wurde dann genau mikroskopisch und zwar im Dunkelfeld wie mit der Burrischen Methode kontrolliert.

Allerdings erfolgt die Heilwirkung, wie wir wissen, bei der Hühnerspirillose nicht zum wenigsten durch die Antikörperbildung. Diese Tatsache trifft aber auch für die Arsentherapie der Hühnerspirochäten zu. Die großen Versuchsreihen sind vor allen Dingen deshalb notwendig, weil Hühner individuelle Unterschiede in der Empfänglichkeit bezüglich der Giftwirkung der Präparate aufweisen. Es ist ja bekannt, daß verschiedene Tierarten sich außerordentlich verschieden gegen die Giftwirkung des Quecksilbers verhalten. Die hohe Empfänglichkeit der Rinder gegen das Quecksilber, die schon durch Injektion von wenigen Milligrammen Hg schwer



krank oder sogar getötet werden können, ferner z. B. die fast ebenso geringe Toleranz der Kaninchen gegenüber dem Quecksilber ist allgemein bekannt. Es bestehen aber auch bei ein und derselben Tierart, wie Bürgi es bei Kaninchen nachgewiesen hat, weitgehende Unterschiede in der individuellen Empfindlichkeit bzw. in der Giftwirkung des Quecksilbers. Wie in dem folgenden Teil der Arbeit von Dr. Abelin berichtet wird, lassen sich nun bei Hühnern, weil sie relativ quecksilber-tolerant sind, sowohl die toxikologischen Wirkungen, die lokalen und die allgemeinen, als auch die akut wie chronisch tötenden Dosen relativ genau ermitteln.

Es ergab sich zunächst bei unserer Auswertung der Präparate die unerwartete Tatsache, daß zwischen den löslichen und den unlöslichen, zwischen den eiweißfällenden und den nicht eiweißfällenden Quecksilberpräparaten bezüglich der Heilwirkung bei der Spirillose der Hühner kein wesentlicher Unterschied besteht. Das Ueberraschende lag hierbei darin, daß lösliche und nicht eiweißfällende Quecksilberpräparate nicht rascher resorbiert werden und ihre Antispirochätenwirkungen entfalten als unlösliche und eiweißfällende. Die hier festgesetllte und auffällige Tatsache dürfte auch für die Behandlung der chronischen Spirillosen, vor allen Dingen der Syphilis, von Bedeutung sein. Auf die hiermit im Zusammenhang stehende Frage der Bedeutung der „Depotbildung" des Hg soll weiter unten noch kurz eingegangen werden.

Bei unseren Studien ist uns schon früher das besondere Verhalten einiger Präparate aufgefallen, bei denen die therapeutische Wirkung auf Hühnerspirochäten nicht mit dem Quecksilbergehalte im Sinne der Ionisierung parallel ging. Es war dies z. B. der Fall bei Hermophenyl, ferner bei Hydrargyrum salicylicum und bei dem nitromercuribenzoesauren Natrium. Diese Präparate unterscheiden sich dadurch von den zahlreichen übrigen Verbindungen, die rein empirisch in der Syphilistherapie beim Menschen angewandt wurden, und zum Teil nur deshalb benutzt sind, weil sie wenig lokal reizend wirken oder in geringem Volumen hohen Hg-Gehalt haben bzw. in Wasser löslich sind und kein Eiweiß fällen. Das Hermophenyl z. B. ist viel weniger wirksam, als es dem Quecksilbergehalte entspricht. Es rührt das wohl daher, daß diese Verbindung sulfuriert ist. Beim Hydrargyrum salicylicum haben wir eine aromatische Hg-Verbindung vor uns, bei der das Hg an den Benzolring direkt gebunden ist. Bei dem Natriumsalz der Dinitromercuri-diphenyl-dicarbonsäure von Ferd. Blumenthal ist zwar durch die Einführung der Nitrogruppen eine relativ starke Entgiftung des Präparates herbeigeführt, ohne daß seine Organotropie vermindert ist, es ist aber gleichzeitig, da das Quecksilber an den Benzolring zu fest gebunden ist, therapeutisch unwirksam geworden.

Unsere Studien führten zu den sicheren Ergebnissen, daß alle Quecksilberpräparate, bei denen sich auffällige chemotherapeutische Wirkungen, die nicht dem Quecksilbergehalt entsprechen, feststellen ließen, organische Quecksilberverbindungen waren und zwar solche der aromatischen Reihe. In Uebereinstimmung mit den auch bei den Arsenverbindungen und anderen pharmakologisch wirksamen organischen Präparaten gemachten Erfahrungen wie auch unseren Studien, hat einerseits die Einführung der Sulfo-, Nitro- oder Sulfaminogruppe in die Hg-Verbindung einen Einfluß auf den Organotropismus, andererseits ist aber auch die Art der Bindung des Quecksilbers, d. h. je nachdem



dasselbe an den Stickstoff oder den Sauerstoff oder an den Schwefel oder direkt an den Benzolring gekuppelt war, entscheidend für den therapeutischen Effekt. Diese chemotherapeutischen Gesichtspunkte verfolgten wir nun unter Mitarbeit des Chemikers E. Scheitlin weiter. Wir sind durch systematische Versuche zu der Auffassung gekommen, daß die Entgiftung der Verbindungen nicht durch Einführung der Sulfogruppe, wie es bei dem therapeutisch so unwirksamen Hermophenyl geschehen ist, sondern durch die von E. Scheitlin hergestellten Sulfaminoverbindungen sich chemo-therapeutisch am besten bewährt.

Scheitlin stellte in der chemischen Fabrik von L. Givaudan in Vernier bei Genf nach diesen Gesichtspunkten Hg-Verbindungen her und zwar sowohl aromatische Verbindungen, bei denen das Quecksilber an den Benzolring oder an das Pyrazolon (Fünferring) gebunden war. Durch die Untersuchungen, bei denen wir den therapeutischen Koeffizienten, d. h. das Verhältnis zwischen der Dosis curativa und der Dosis lethalis der verschiedenen so hergestellten Verbindungen, wie in dem vorhergehenden Vortrage ausgeführt ist, zu ermitteln suchten, führten uns schließlich zu einer Verbindung, die zuerst von E. Scheitlin hergestellt ist und in der wir ein auf Spirochäten stark wirksames Präparat fanden. Dasselbe war zugleich außerordentlich wenig giftig. Bei der Sulfaminodimethyl-phenyl-pyrazolonverbindung ist der therapeutische Koeffizient außerordentlich viel günstiger, als bei allen bisher bekannten Hg-Verbindungen. Während, wie wir schon erwähnt haben, bei dem Hermophenyl, dem Asurol, der Dinitromercuridiphenylverbindung der Benzolring zugrunde liegt und das Hg-Atom direkt an den Ring gekuppelt ist, baut sich das Mittel von E. Scheitlin aus dem Dimethyl-phenyl-pyrazolonring auf, wobei das Hg-Atom jedoch nicht direkt an eine Kohlenstoffgruppe, sondern an den Stickstoff oder an die Sulfaminogruppe gebunden ist. Dieser letztere Umstand ist wichtig, denn durch die Bindung des Hg wird eine solche Verankerung ermöglicht, die bezüglich ihrer Wirksamkeit die mittlere Linie hält zwischen dem nicht ionisierbaren und den außerordentlich leicht zerfallenden Verbindungen.

Ehe wir zur Zusammenfassung der aus unseren Versuchen sich ergebenden Schlußfolgerungen übergehen, ist es notwendig, die Frage kurz zu beantworten: Welche Anforderungen stellen wir vom chemo-therapeutischen Gesichtspunkte aus an ein praktisch brauchbares, wirksames Quecksilberpräparat?

Das Präparat muß so beschaffen sein. daß es im Organismus eine möglichst starke abtötende oder entwicklungshemmende Wirkung auf die Spirochäten ausübt, d. h. es muß einen ausgesprochenen Parasitotropismus besitzen, daneben soll aber das Quecksilber möglichst wenig an die Organe verankert werden, die Verbindung muß sich also durch einen geringen Organotropismus (geringe Giftigkeit) auszeichnen. Ferner muß die Ausscheidung des Quecksilbers durch Harn, Fäces oder Speichel möglich sein, damit nicht eine Kumulationswirkung und chronische Vergiftungserscheinungen zutage treten. Schließlich darf ein in der Therapie der menschlichen Syphilis brauchbares Präparat keine oder nur solche geringe Reizerscheinungen an der Injektionsstelle hervorrufen. So wenig eine Verankerung des Quecksilbers an die lebenswichtigen Organe für chemo-therapeutische Zwecke erwünscht ist, so irrelevant dürfte eine „Depotbildung“ an der Injektionsstelle sein. Denn wie die Untersuchungen der Pharmakologen zeigen und vor allem wie aus den Quecksilberausscheidungskurven



(Urin) und die Untersuchungen über die Ablagerung der verschiedenen injizierten Hg-Verbindungen bei Tieren hervorgeht, werden lösliche Hg-Präparate zunächst in unlösliche übergeführt, auch wenn sie nicht eiweißfällend sind, und an der Injektionsstelle deponiert. Deshalb schreibt Bürgi auf Grund seiner Untersuchungen: „... Ebenso ist es verständlich, daß lösliche Präparate, die ja im Organismus höchstwahrscheinlich zuerst wieder in unlösliche, besser gesagt schwerlösliche, übergeführt werden, sich, was ihre Aufnahme im Blute betrifft, nicht anders verhalten als die schwerlöslichen, so daß der Unterschied in der Behandlung mit leicht und schwerlöslichen Quecksilberpräparaten nur darauf beruht, daß von den ersten wenig und täglich, von den letzteren viel, aber nur zweimal in der Woche, injiziert wird."

Es wird möglich sein, große Mengen von Quecksilber dem infizierten Organismus einzuverleiben, wenn wir ein Präparat besitzen, das bei geringer Giftigkeit und minimaler Affinität zu den Organen eine möglichst starke Wirkung auf Spirochäten entfaltet. Von ähnlichen Gesichtspunkten aus war das Asurol empfohlen worden. Neißer erblickt einen Hauptvorteil in der Anwendung des Asurols darin, daß man viel größere Einzeldosen von Quecksilber injizieren kann, ohne durch Quecksilber hervorgerufene Organschädigungen oder gar allgemeine Vergiftung befürchten zu müssen, und schreibt: „Wir haben in der Tat aus allen bei der Syphilis wie bei den Trypanosomenerkrankungen gemachten Erfahrungen Berechtigung zu der Annahme, daß die Vernichtung der Spirochäten um so sicherer, schneller und nachhaltiger gelingt, je größere Einzelschläge wir ihnen durch Gegenmittel versetzen können, daher ja auch die zweifellos ausgezeichnete und über alle anderen Mittel hervorragende Wirkung der Kalomelinjektionen, bei denen wir ja nicht weniger als 0,085 g Hg auf einmal injizieren ..."

Das Asurol ist aus Quecksilber-Salicyl hergestellt und zwar dadurch, daß dieses in eine lösliche Verbindung übergeführt ist. Obwohl jedoch der Hg-Gehalt des Asurols von dem des Salicylquecksilber nicht wesentlich (nur um 18%) verschieden ist, mußten wir bei der Hühnerspirillose von dem Asurol die 4 fache Menge des Salicylquecksilbers verabreichen, um dieselbe Wirkung hervorzurufen. Die Wirkung des Hydrargyrum salicylicum scheint demnach, wenigstens bei der Hühnerspirillose, erheblich stärker zu sein. Die bisherigen mit Asurol bei der Behandlung von Syphiliskranken gemachten Erfahrungen sprechen für die Richtigkeit dieser durch unsere Versuche gewonnenen Annahme. Ferner liegt das Verhältnis der Dosis curativa zu der Dosis lethalis bei dem Quecksilbersalicyl (1:24) bedeutend günstiger als bei dem Asurol (1:6). Auf Grund unserer Versuche müssen wir die Ueberlegenheit des Asurols gegenüber dem Hydrargyrum salicylicum entschieden verneinen, da von beiden Mitteln 0,6 g die tödliche Dosis für Hühner ist und wir uns bei der Heilung der Hühnerspirillose mit Asurol der lethalen Dosis viel mehr nähern müssen, als es bei dem Quecksilbersalicyl der Fall ist. Die Dinitroverbindung von Blumenthal ist zwar auch sehr wenig toxisch, besitzt aber gleichfalls eine minimale therapeutische Wirkung. Von allen von uns geprüften Präparaten, unter welchen sich auch solche befanden, die sich in der Syphilistherapie am wirksamsten erwiesen haben, müssen wir entschieden der Sulfamino-dimethyl-phenyl-pyrazolonquecksilberverbindung den Vorzug geben. Dieses nach chemotherapeutischen Gesichtspunkten im Sinne Ehrlichs aufgebaute Präparat hat den Vorteil, daß es trotz relativ weitgehender Entgiftung, wie die toxikologischen Prüfungen an Hühnern und Kaninchen gezeigt haben, eine



starke parasitozide Wirkung entfaltet. Wie von Herrn Prof. Jadassohn bei den von ihm mit dem Präparat behandelten Kranken festgestellt werden konnte, ist auch die weitere Anforderung, die an ein in der Syphilistherapie brauchbares Präparat gestellt werden muß, nämlich die Ausscheidung des Hg in den Exkreten, auch in diesem Falle erfüllt worden. Das Hg ist demnach durch die Sulfaminogruppe mit dem als Lastwagen dienenden Pyrazolonring verkuppelt, aber nicht so fest, daß es seine Wirksamkeit nicht entfalten könnte. Das Verhältnis der Dosis curativa zur Dosis lethalis ist bei diesem Präparat ein noch viel günstigeres als bei dem Quecksilbersalicyl.

Schlußsätze.

1. Es gelingt durch Untersuchungen bei der Hühnerspirillose Aufschluß über die biologische Wirksamkeit der verschiedenen Quecksilberpräparate zu gewinnen.

2. Bei den organischen Quecksilberverbindungen, namentlich der aliphatischen Reihe, scheinen keine Unterschiede im chemo-therapeutischen Sinne zu existieren, während unter den organischen Hg-Verbindungen, die den Benzolring oder den Pyrazolonkern enthalten, ausgesprochene Unterschiede bestehen, die sich nur durch die Konstitution der Verbindungen erklären lassen.

3. Als Beweis hierfür sei das Quecksilbersalicyl, das Hermophenyl, das Asurol, die Dinitromercuribenzoesäure, sowie die Sulfaminoantipyrinquecksilberverbindung angeführt. Bei diesen Präparaten bestehen nicht nur gewaltige Unterschiede in der Toxizität, sondern auch im Verhältnis der Dosis curativa zu der Dosis toxica, verglichen mit den Präparaten der aliphatischen Reihe.

4. Die Entgiftung der Präparate (Verminderung des Organotropismus) scheint sich mit der Sulfaminoverbindung von E. Scheitlin in ausgezeichneter Weise durchführen zu lassen, ohne daß der Parasitotropismus darunter leidet. Die Einfügung des Quecksilbers durch diese Verbindung an den Fünferring des Pyrazolonkerns ist den bisher geübten Verfahren, namentlich der Entgiftung durch Sulfoverbindungen überlegen. Das Sulfamino-dimethyl-phenyl-pyrazolonquecksilber hat noch den weiteren Vorzug vor dem empfohlenen Asurol bzw. anderen Verbindungen, bei denen das Hg-Atom fest an den Benzolring gebunden ist, daß das Quecksilber in dieser Verbindung trotz seines geringen Organotropismus einen starken Parasitotropismus entfaltet.

5. Das Sulfamino-dimethyl-phenyl-pyrazolonquecksilber, dessen Prüfung beim syphiliskranken Menschen jetzt durchgeführt wird, dürfte aus den dargelegten Gründen und wegen seiner stark spirilloziden Wirkung bei relativ geringer Toxizität berufen sein, für die kombinierte Behandlung der Syphilis mit Salvarsan + Hg-Präparaten das geeignete Mittel darzustellen, vorausgesetzt, daß die therapeutische Wirksamkeit beim Menschen den experimentell bei Tieren ermittelten Tatsachen parallel geht.



Diskussion über die Vorträge von Kolle und Rothermund:

Franz Blumenthal (Berlin) hat bei der Hodenkaninchensyphilis mit dem schon von Herrn Professor Kolle vorhin erwähnten dinitrodiphenylmercuridikarbonsauren Natron Versuche angestellt. Die Dosis tolerata für Kaninchen von 2—3 kg beträgt 1,0—1,5 g. 0,4 g intravenös oder intramuskulär injiziert heilen ausgedehnte Primäraffekte. Innerhalb 48 Stunden sind die Spirochäten meist verschwunden. Neben dem erwähnten Präparate prüfte er noch das analog konstituierte Diamino- und Dioxyprodukt. Alle drei Präparate wirken auf Kaninchensyphilis ein. Das Diamino- am schwächsten. Das Dioxypräparat ähnlich dem Dinitropräparat. Daneben prüfte er noch eine Monoringverbindung des Quecksilbers, die neben einer Aminogruppe einen Acetrest enthält. Dieselbe ist weit giftiger als die oben erwähnten völlig maskierten Präparate. Die Dosis bene tolerata für Kaninchen von 2—3 kg beträgt 0,1 g. Von dieser Verbindung genügt meist eine einmalige Injektion von 0,05 g, um Kaninchen von einer ausgedehnten Hodensyphilis zu heilen.

Mit dem oben erwähnten dinitrophenylmercuridikarbonsauren Natron wurden Versuche am Menschen angestellt. Dieselben wurden in der Kgl. Universitätsklinik für Hautkrankheiten ausgeführt. Es wurde bis 0,6 des Präparates, nachdem wir uns durch allmähliches Steigen von seiner Unschädlichkeit überzeugt hatten, teils intravenös, teils intramuskulös Menschen wiederholt injiziert. Die intravenösen Injektionen wurden gut vertragen. Die intramuskulären Injektionen riefen an der Impfstelle Schwellungen und Infiltrate ähnlich denjenigen nach Salvarsaninjektionen hervor. Der Erfolg war sehr gering und entsprach nicht einmal dem mit 0,02 Sublimat gewöhnlich beim Menschen erzieletn. Dies ist um so merkwürdiger, als es nicht gelingt, mit Sublimat bei der Kaninchensyphilis nennenswerte Resultate zu erzielen, während unser Präparat allerdings in großen Dosen prompt wirkt. Es zeigt dies wieder einmal, wie vorsichtig man sein muß, wenn man aus chemotherapeutischen Versuchen an einer Tierart Schlüsse für eine andere Tierart ziehen will.

Schilling (Berlin): In meinem Laboratorium werden seit ca. 1 Jahr Versuche mit Hg-Präparaten angestellt; es handelte sich besonders um aromatische Verbindungen. Auf Hühnerspirillose, die auch spontan nicht selten ausheilt, wirken viele dieser Präparate, bei Rekurrens nur einige davon. Es wird der akute schwere Verlauf in einem mehr chronischen, rezidivierenden verwandelt, der in Heilung ausgehen kann. Die Hg-Wirkung ist eine aus parasitizider und Antikörper-Wirkung kombinierte.



Sitzung am 30. Mai 1912 nachmittags.

Vorsitzender: Gärtner (Jena).

I. Jos. Koch (Berlin):

Demonstration von experimentell erzeugten Gelenkerkrankungen und Deformitäten.

In einer früheren Arbeit habe ich gezeigt, daß während einer mit pathogenen Mikroorganismen hervorgerufenen Allgemeininfektion junger Kaninchen im Epiphysenmark eine besonders reichliche Ansiedlung und Vermehrung des betreffenden Erregers stattfindet, und daß die Knochen unter der Einwirkung dieser infektiösen Ursache, besonders an den Stellen, wo das physiologische Wachstum vor sich geht, pathologische Veränderungen erleiden können. Ich habe ferner darauf aufmerksam gemacht, daß auch im Verlauf mancher Infektionskrankheiten des frühen Kindesalters, nach Masern, Scharlach, Diphtherie, Keuchhusten usw. verschiedene Arten von Bakterien in die Blutbahn geraten und an den Epiphysen sich vermehren können, ohne daß eine allgemeine Infektion fortbesteht. Die Knorpelknochengrenze jugendlicher Individuen stellt also eine Prädilektionsstelle für die Ansiedlung von Bakterien dar, und da die Epiphysen derartiger Patienten häufig die ersten Anfänge der rachitischen Knochenstörung zeigen, lag der Gedanke nahe, sie auf eine bakterielle Ursache zurückzuführen, eine Ansicht, die bereits einzelne Forscher in ihren Arbeiten vertreten haben.

Weitere Fortschritte in der Erkenntnis der Einwirkung von Bakterien auf den Knochen und seine Adnexe und der Rolle, die Bakterien bei pathologischen Zuständen kindlicher Epiphysen spielen, sind noch am ehesten vom Tierexperiment zu erwarten. Ich habe daher mit verschiedenen Mikroorganismen, die nach meinen Erfahrungen bei Infektionen im Kindesalter am häufigsten gefunden werden und gewöhnlich als Mischinfektionserreger gelten, mit Strepto-, Staphylo-, Pneumokokken und dem Bacterium pyocyaneum systematisch Versuche angestellt, ob sie in die Blutbahn injiziert, eine besondere Affinität zum Knochensystem haben. Denn nur auf diesem Wege ist es möglich, die im Blut kreisenden Bakterien in einer der natürlichen Infektion entsprechenden Weise an die Epiphysen heranbringen und ihr weiteres Verhalten dort zu verfolgen.

Das dankbarste Versuchsobjekt für derartige Zwecke ist der jugendliche Hund im Alter von 6—12 Wochen. Glatthaarige schwere Rassen eignen sich am besten.

Die pathogenen Bakterien wurden in der Form 24 stündiger Bouillon- und Serumkulturen in einer durchschnittlichen Menge von $1\frac{1}{2}$—3 ccm den Tieren intravenös (Vena jugularis superficialis coli) eingespritzt.

Von den mit den eben genannten pathogenen Bakterien erzeugten Allgemeininfektionen zeigt die Streptokokkeninfektion des jungen Hundes ein einheitliches und recht charakteristisches Krankheitsbild. Wie zahl-



reiche Versuche zeigten, läßt sich auf dem Blutwege nach Einspritzung einer entsprechenden Menge (1½—3 ccm) einer virulenten Kultur des *Streptococcus longus seu erysipelatos* beim jungen Hunde ein typisches Krankheitsbild erzeugen, bei dem die Affektion der Gelenke und des Darmes die wesentlichsten Symptome sind.

Im Verlauf des Leidens kommt es bei den Hunden zu teils flüchtigen, teils länger dauernden Schwellungen der Gelenke. Die einzelnen Gelenke werden in sehr unregelmäßiger Weise befallen. Im Gelenk selbst findet sich meist ein seröser Erguß, der klar oder getrübt, zuweilen Fibrinflocken enthält, und in dem sich mikroskopisch zahlreiche polynukleäre Leukocyten, aber keine Bakterien nachweisen lassen; es handelt sich also um sterile Gelenkergüsse. Bemerkenswert ist, daß die makroskopisch sichtbare Entzündung sich nicht allein auf das Gelenk beschränkt, sondern daß hieran auch die nächste Umgebung Sehnen und Muskeln beteiligt sind, die von einem serösen Exsudat durchtränkt sind.

Wenn nach Verschwinden des Gelenkergusses und der peri- und paraartikulären Schwellungen die akuten Erscheinungen bereits geschwunden sind, bleibt häufig noch eine Verdickung der das betreffende Gelenk bildenden Knochenpartien zurück, ein Beweis dafür, daß außer der Gelenkhöhle und den Weichteilen auch die Gelenkenden selbst an dem Entzündungsprozeß beteiligt sind und den Hauptherd der Erkrankung bilden.

Auf welche Weise kommt die Erkrankung der Epiphysen der Gelenkenden beim Hunde zustande?

Bemerkenswert ist zunächst, daß der *Streptococcus longus* der beim Menschen, dem Kaninchen und der Maus die schwerste Allgemeininfektion zu erzeugen imstande ist, für den erwachsenen Hund fast gar keine, für den jugendlichen Hund eine abgeschwächte Pathogenität mit geringer Neigung zur septischen Allgemeininfektion besitzt. Eine eigentliche primäre Streptokokkensepsis mit Vermehrung der Kokken im Blut läßt sich beim Hunde nicht erzeugen. Diese Widerstandsfähigkeit des Hundes beruht wohl auf der starken bakteriziden Wirkung seines Serums, das die injizierten Keime zum Teil vernichtet, zum Teil erheblich in ihrer Virulenz schwächt, jedoch bleibt ihre Virulenz doch noch groß genug, daß sie sich an den Epiphysen ansiedeln und dort lokale Schädigungen verursachen können.

In der Hauptsache sind es degenerative Veränderungen, die unter der Einwirkung der Streptokokken an den Epiphysen entstehen. Es kommt hauptsächlich zu einem Untergange der Epiphysenspongiosa und Veränderungen an der Ossifikationslinie. Hier entwickeln sich dann später die Regenerationsprozesse, falls die Tiere die lokale Erkrankung überstehen.

Sehr bemerkenswert sind nun die eigenartigen Folgezustände und die Deformation der Knochen und der Epiphysen, die bei den Tieren nach Ablauf der akuten Infektion beobachtet wurden. Die Erwartung, daß die durch die Streptokokken herbeigeführte Schädigung der Epiphysen in irgendeiner Weise die Entwicklung des Knochensystems der jugendlichen Hunde beeinflussen würde, hat sich in der Tat bestätigt, denn bei den überlebenden Hunden entwickelten sich im Laufe der Zeit charakteristische Deformitäten.

Bei zwei Hunden kam es zu einer hochgradigen O-beinigen Stellung der



vorderen Extremitäten; bei einem anderen zu einer starken Valgusstellung der Vorderfüße, so daß dadurch eine X-Beinstellung vorgetäuscht wurde. Allen Hunden gemeinsam war eine starke Auftreibung der Rippen an der Knorpelknochengrenze und Verdickungen an den Epiphysen, also genau den Stellen entsprechend, wo die Schädigung der Knorpelknochengrenze durch die Streptokokken stattgefunden hat.

Klinisch entsprechen diese Deformitäten durchaus denen, wie sie bei rachitischen Kindern sich im Anschluß an akute Infektionen entwickeln. Ob sich auch das histologische Bild dieser beim Hunde erzeugten Deformitäten mit dem der menschlichen Rachitis deckt, läßt sich zurzeit noch nicht sagen, da die mikroskopische Untersuchung der krankhaft veränderten Knochen noch aussteht.

Gegen eine spontan entstandene Rachitis, wie sie beim Hunde zuweilen beobachtet wird, sprechen verschiedene Gründe. Das wichtigste Moment ist wohl die Tatsache, daß eine akute Entzündung der Epiphysen vorausgegangen ist und daß sich die Deformitäten ganz allmählich im weiteren Verlauf des Wachstums des Hundes entwickelt haben. Es spricht ferner dagegen, daß die in denselben Ställen mit den infizierten Tieren zusammen lebenden Kontrollen keinerlei Knochenveränderungen gezeigt haben. Ebensowenig kann unzweckmäßige Ernährung die Veränderungen verschuldet haben, da die Kontrollen dasselbe Futter wie die infizierten Versuchstiere erhielten und dabei sich durchaus normal entwickelten. Ein sehr wichtiges Moment, welches genau eine spontan entstandene Rachitis spricht, ist endlich auch die Beobachtung, daß das veränderte Knochen- und Knorpelgewebe der Ossifikationslinie als Regenerationsprodukt sich gerade an den Stellen lokalisiert, wo unter Einwirkung der Bakterien die degenerativen Veränderungen entstehen. (Ausführl. Publikation s. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 72.)

Im Anschluß an den Vertrag wurden Aufnahmen von den Hunden und Tiere mit hochgradigen Verkrümmungen der Extremitätenknochen demonstriert.

Diskussion:

Kretz (Würzburg): Nach Untersuchungen Dr. Kuboss' im Würzburger pathologischen Institute treten beim jungen Kaninchen prärachitische Veränderungen an der Knorpelknochengrenze, nach einigen Wochen bei wenig virulenter Infektion auf: sie sind typisch postinfektiös.

II. Friedberger, E. und Kumagai, T.:

Demonstration von Giftwirkungen mittels graphischer Methoden.

Meine Herren! Wir studieren in der Bakteriologie die Wirkung von Bakterien und antigenen Giften an sich und in ihrer Wechselwirkung mit den Antikörpern fast nur am Gesamtorganismus, d. h. in Beziehung auf ihren Endeffekt, ob sie das Versuchstier töten oder nicht. Allenfalls werden dann noch die anatomischen Veränderungen in den Kreis der Untersuchung mit einbegriffen, dagegen wird das Studium der Wirkung von Bakterien und Giften, bezw. Antikörpern, auf einzelne Organe mit den in der



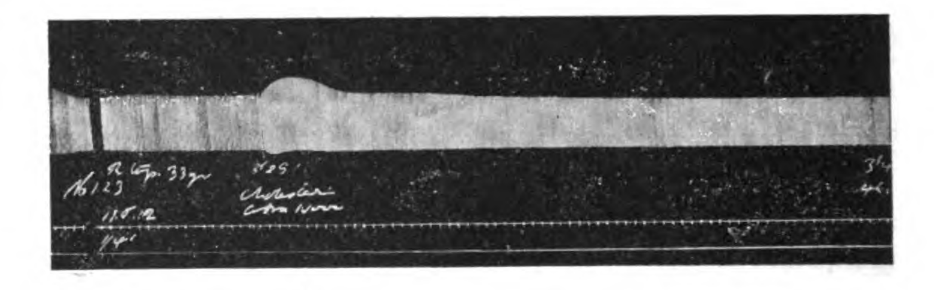
Physiologie üblichen Methoden nur selten geübt; und doch vermögen derartige namentlich graphische Methoden feine und theoretisch wie praktisch wichtige Aufschlüsse zu gewähren. Im Anschluß an frühere Versuche von Friedberger und Mita (Zeitschr. f. Immunität, Bd. X) über den Einfluß des Anaphylatoxins und Peptons auf das isolierte Froschherz, in der Versuchsanordnung von Straub haben wir deshalb mit der gleichen Methode den Einfluß einer Reihe von Giften und Gegengiften untersucht. Das Diphtherietoxin und das Tetanustoxin sind ohne Einfluß auf das isolierte Froschherz. Dagegen ist dies ein ausgezeichnetes Objekt zum Studium der Wirkung des Kobragiftes. Die folgende Kurve 1 zeigt, daß das Kobragift in $^1/_{1000}$ facher Verdünnung fast



*

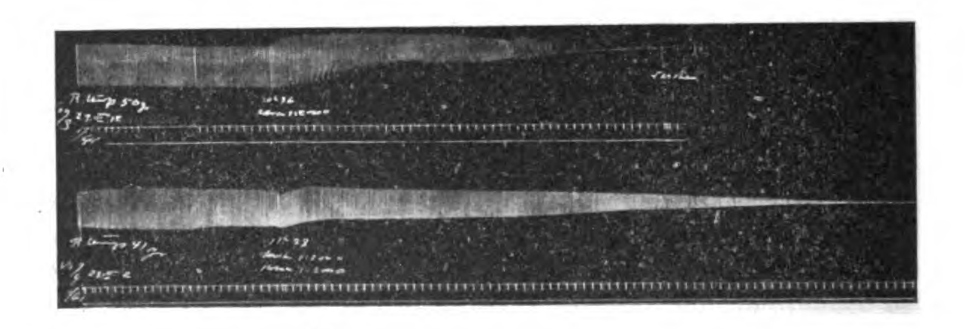
Fig. 1. Froschherz bis * Ringerlösung dann Kobragift $^1/_{1000}$.

momentanen Stillstand des mit Ringerlösung vorher kräftig schlagenden Herzens bewirkt. Kurve 2 zeigt, daß die Einwirkung des Kobragiftes auf das isolierte Froschherz durch Cholestearin vollständig neutralisiert wird. Kurve 3



*

Fig. 2. Froschherz bis * Ringerlösung, dann Kobragift $^1/_{1000}$ mit Cholestearin.



*

Fig. 3. Froschherz bis * Ringerlösung, dann oben Kobragift $^1/_{2000}$ unten Kobragift $^1/_{2000}$ mit Lecithin $^1/_{2000}$.

zeigt den unvollkommen entgiftenden Einfluß des Lecithins. Der Nachteil dieser Methode ist der, daß man mit einem Kaltblüterorgan arbeitet. Freilich kann man entsprechenden Versuche auch mit Warmblüterherzen anstellen, doch ist hier die Methode viel umständlicher und das Organ sehr empfindlich, was die Deutung der Resultate erschwert. Dagegen lassen sich mit einer von Magnus angegebenen und von uns für die speziellen Zwecke modifizierten Methode am isolierten Säugerdarm eine Reihe von Giften sehr bequem studieren, also an einem Organ, auf das gerade bakterielle Gifte, auch in vivo, besonders einwirken. Das Prinzip der Methode beruht darauf, daß ein Darmstück in Ringerlösung, bzw. in der zu prüfenden Giftlösung bei Körpertemperatur und unter ständiger Sauerstoffdurchleitung an beiden Enden so fixiert ist, daß die Längskontraktionen mittels eines Schreibhebels sich auf eine berußte Trommel übertragen lassen. Auch mittels dieser Methode haben wir zunächst den Einfluß des Kobragiftes auf den isolierten Darm untersucht und die folgenden Kurven, 4, 5, zeigen, daß eine Kobra-

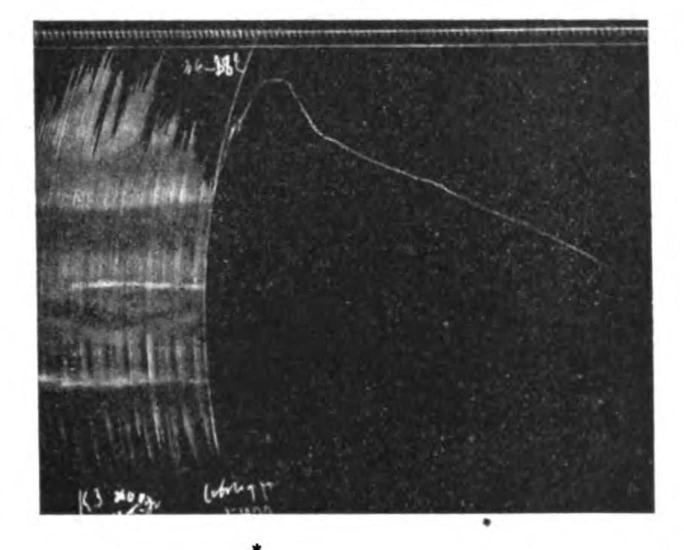
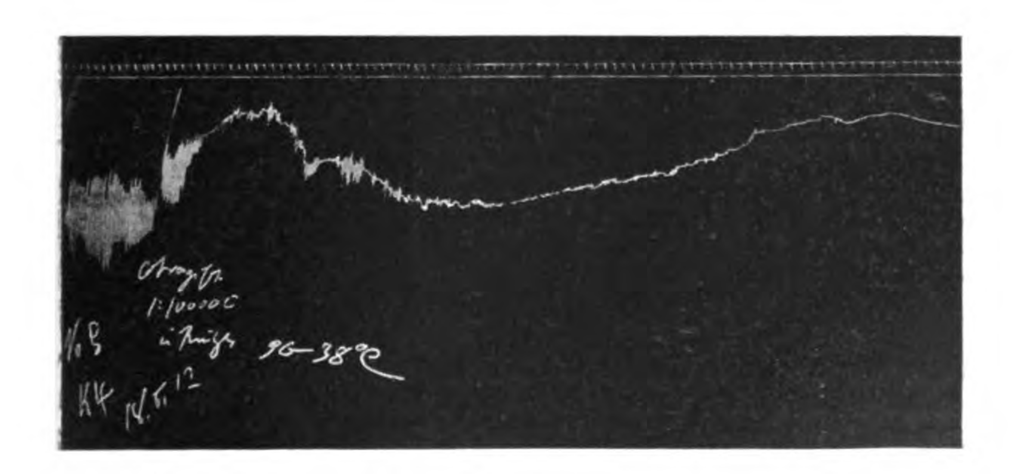


Fig. 4.
Kaninchendarm bis *
Ringerlösung
dann Kobragift $^1/_{1000}$.

*



*
Fig. 5. Kaninchendarm bis * Ringerlösung dann Kobragift $^1/_{100\,000}$.

giftlösung $^1/_{1000}$ und auch $^1/_{50000}$ fast momentanen Stillstand der Darmperistaltik bewirkt, daß aber auch noch bei bedeutend stärkeren Verdünnungen der deutliche Einfluß des Giftes auf den Darm fast momentan sich geltend macht. Kurve 6 zeigt auch hier die Entgiftung durch Cholestearin.



Fig. 6. Kaninchendarm bis * Ringerlösung dann Kobragift $^1/_{10\,000}$ mit Cholestearin.

Tödliche Dosis des Kobragiftes für Frösche

intrav. Dos. pr. 100 g	Kobragift allein	Kobragift mit Cholestearin beh.
0,2	tot sofort	—
0,1	tot sofort	—
0,05	tot nach 10 Minuten	—
0,01	tot nach 20 Minuten	tot nach 44 Minuten
0,0025	tot nach 1 Std. 57 Min.	tot nach 1 Stunde
0,001	tot nach 1 Stunde	tot nach 3 Stunden
0,0005	tot nach 2 Std. 12 Min.	tot während der Nacht
0,001	tot während der Nacht	tot während der Nacht
0,00005	tot während der Nacht	tot am folgenden Tage
0,00001	lebt	lebt
0,000001	lebt	lebt

für Mäuse

Subkut. Dos. pr. 100 g	Kobragift allein	Kobragift mit Cholestearin behandelt
0,00002	tot nach 1 Stunde	tot nach 1 Std. 30 Min.
0,00001	tot während der Nacht	tot während der Nacht
0,000005	tot während der Nacht	tot während der Nacht
0,000001	lebt	lebt
0,0000005	lebt	lebt

Wenn wir also die Wirkung des Cholestearins auf das Kobragift zusammenfassend betrachten, so sehen wir, daß nicht nur die hämolytische Wirkung des Vitrogiftes neutralisiert wird, sondern auch die Wirkung auf das isolierte Froschherz und auf den Kaninchendarm. Nebenbei sei noch bemerkt, daß das Cholestearin auch die komplementzerstörende Wirkung

des Kobragiftes paralysiert, die von Sachs und Omorokoff sowie Ritz näher studiert ist, wie ich und Tassawa festgestellt haben. Demgegenüber ist bemerkenswert, daß im Tierkörper das Cholestearin absolut nicht entgiftend auf das Schlangengift wirkt. Das demonstriert die vorstehende Tabelle (p. 42) nach Versuchen am Frosch und an der Maus. Wir haben freilich bei einigen Tieren eine geringe Verzögerung der Giftwirkung mit Cholestearin und Schlangengift erreicht, doch ist, wie gesagt, von einer eigentlichen Entgiftung keine Rede. Worauf das verschiedene Verhalten des Schlangengiftes in vitro einerseits und in vivo andererseits beruht, möchten wir dahingestellt sein lassen; vielleicht sind die Verhältnisse tatsächlich so, daß es sich bei der Vitrowirkung und der Wirkung im Organismus um zwei verschiedene Gifte handelt, von denen nur das Vitrogift durch Cholestearin neutralisiert wird. Andererseits kann man sehr wohl annehmen, daß das Gift ein einheitliches ist und daß im Organismus die Verbindung Schlangengift Cholestearin wieder gesprengt wird.

Im Anschluß an die bereits veröffentlichten Versuche von Friedberger und Mita über die Einwirkung des Anaphylatoxin auf das isolierte Froschherz wurden dann analoge Versuche am isolierten Darm angestellt. Hier sei nur kurz über die Versuche mit Dysenteriebazillen und Anaphylatoxin aus diesen berichtet, also mit einer Bakterienspezies, für deren Gifte das Kaninchen ganz besonders empfänglich ist. Zunächst wurde in Vorversuchen festgestellt, daß weder das normale Kaninchenserum, noch auch das normale Meerschweinchenserum an sich auf den isolierten Darm von Einfluß ist (Fig. 7).

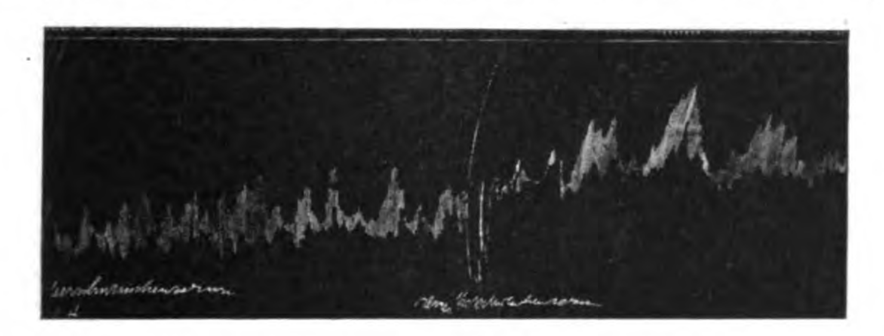


Fig. 7. Kaninchendarm bis * Meerschweinchenserum 1/4 dann reines Meerschweinchenserum.

Es war nun von vornherein zu erwarten, daß bei der bekannten Giftigkeit der Dysenteriebakterien und Dysenteriebakteriengifte für das Kaninchen, Aufschwemmungen sowie Schüttelextrakte in destilliertem Wasser aus *Bacillus dysenteriae* Shiga-Kruse hergestellt, einen schädlichen Einfluß auf den Kaninchendarm ausübten. Zu unserer Ueberraschung erwiesen sich aber sowohl Bazillenleiber wie derartiges Extrakt, das durch Schütteln reichlicher Bakterienmengen mit destilliertem Wasser hergestellt war, in allen Versuchen als unwirksam. Dagegen trat fast momentan vollkommener Stillstand der Darmperistaltik ein, sobald entsprechende oder auch kleinere Mengen von Dysenteriebazillen oder Dysenterieextrakt mit normalem Kaninchenserum bzw. mit normalem Meerschweinchenserum digeriert waren (Fig. 8, 9). Ueber die Deutung dieser Versuche kann man wohl nicht im Zweifel sein, sie zeigen, daß selbst bei einem für das

Kaninchen so deletär wirkenden Bacillus wie dem *Bacillus dysenteriae* Typus Shiga-Kruse die Bakterienleibessubstanzen an sich ungiftig sind und erst unter dem Einfluß des normalen Serums giftig werden. Die Bedeutung dieser Versuche für die Verhältnisse im Organismus

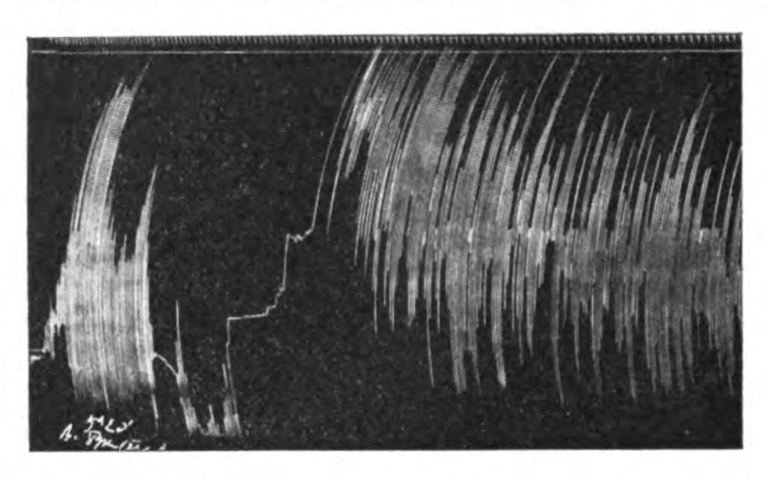


Fig. 8. Kaninchendarm bis * Ringerlösung dann Dysenteriebazillen.



Fig. 9. *Kaninchendarm bis * Ringerlösung, dann Anaphylatoxin aus Dysenteriebazillen. (Bazillenmenge wie in Vers. No. 8.)

liegt auf der Hand. Sie sind ein weiterer Beweis für die von mir schon früher vertretene Ansicht, wonach auch in vivo die Bakterien bzw. ihre Leibessubstanzen nicht an sich in erster Linie die Symptome der Krankheit bedingen, sondern vielmehr erst jene, von mir zuerst aus Bakterien dargestellten und als Anaphylatoxin bezeichneten Gifte, die bei der Digerierung des Bakterieneiweißes mit Serum entstehen. Wenn man auch gegenüber unseren Versuchen den Einwand erheben kann, daß es sich um Vitroversuche am überlebenden Organ handelt, so spricht doch jedenfalls alles dafür, daß auch im Organismus die Verhältnisse entsprechend liegen. Es scheint nicht angängig anzunehmen, daß die Bakterienleibessubstanzen an sich auf den kräftigen Darm in vivo stärker wirken sollten als auf das isolierte Organstück in vitro.

Diskussion:

Sachs (Frankfurt a. M.): Für die Beurteilung der interessanten Demonstration Friedbergers über die Wirkung des Kobragiftes auf das isolierte Herz dürfte die Frage von Interesse sein, auf welchen Bestandteil der Giftlösung die hier interferierende Funktion zurückzuführen ist. Nach den Untersuchungen von Flexner und Noguchi, Kyes, Manwaring u. a. sind ja bekanntlich eine Reihe von Giftkomponenten in den Schlangengiften zu unterscheiden. Insbesondere ist die Differenzierung des in vivo tötenden Neurotoxins und des hämolytischen Prinzips des Kobragiftes mit Sicherheit erwiesen. Man kann



wohl mit der Möglichkeit rechnen, daß auch die hier demonstrierte Wirkung auf den Herzmuskel durch die hämolysinbildende Komponente veranlaßt wird. Es handelt sich dabei, wie dies die Untersuchungen von Kyes, von Dungern und Manwaring gezeigt haben, um eine indirekte Wirkung, indem durch die Funktion des Kobragifts aus dem Lecithin das hämolytische Agens, das sog. Kobralecithid (Monofettsäurelecithin, Desoleolecithin) gebildet wird. Im Sinne dieser Auffassung würde die von Friedberger erwähnte Tatsache sprechen, daß Cholesterin die Wirkung auf das Herz verhindert. Auch der hämolytischen Wirkung des Kobragifts wirkt Cholesterin nach den Untersuchungen von Kyes entgegen, während es die neurotoxische Funktion, wie Untersuchungen von Minz aus dem Morgenrothschen Laboratorium gezeigt haben, unbeeinflußt läßt. Der Umstand, daß auch Lecithin die Wirkung auf das Herz in geringerem Maße hemmt, widerspricht der erörterten Auffassung nicht, da Lecithin im Ueberschuß nach meinen Erfahrungen auch die Wirkung des hämolytischen Produkts hindert. Man könnte sich also vorstellen, daß das hämolytische Prinzip des Kobragifts in den Herzmuskel eindringt und durch das Zusammenwirken mit dem vorhandenen Lipoidvorrat seine deletäre Funktion entfaltet. Ich möchte in diesem Zusammenhang daran erinnern, daß auch der von Bang und Overton beschriebene kaulquappentötende Bestandteil des Kobragifts von Coca mit der hämolytischen Komponente identifiziert worden ist.

III. Uhlenhuth und Mulzer (Straßburg) berichteten über neuere Ergebnisse ihrer experimentellen Syphilisstudien. Durch intravenöse und intrascrotale Impfungen ist es den Autoren gelungen, systematisch bei Kaninchen eine Allgemeinsyphilis mit manifesten Symptomen zu erzeugen, die sowohl in ihrem klinischen Verlaufe wie auch histopathologisch der menschlichen Syphilis sehr gleicht. Vererbungsversuche, die von den Vortragenden mit einer großen Anzahl derartig erkrankter Tiere vorgenommen worden waren, sind noch nicht abgeschlossen. Doch scheinen Fehlgeburten vorzukommen. „Lokal"syphilitische Hodenkaninchen können vollkommen gesunde Junge zeugen, die sich Nachimpfungen gegenüber wie die Jungen gesunder Eltern verhalten. Die Durchgängigkeit der Plazenta für die *Spirochaete pallida* haben die Autoren in drei Fällen einwandfrei feststellen können. In einem Falle erkrankte das Junge eines mit 10 ccm Hodenemulsion in die Ohrvene in der Mitte der Schwangerschaft geimpften Kaninchens 2 Monate nach der Geburt an typischer Allgemeinsyphilis, in zwei anderen Fällen gelang es mit dem Leberbrei der Foeten von schwangeren Tieren, die 5 Min. bzw. 24 Stunden einer derartigen Injektion getötet worden waren, typische Hodensyphilide bei gesunden Kaninchen hervorzurufen. Gemeinsam mit Dr. Hügel haben die Vortragenden auch ihre chemotherapeutischen Studien wieder aufgenommen. Das Stibacetin zeigt unter den bisher untersuchten organischen Antimonpräparaten eine bemerkenswerte Wirkung bei der Hühnerspirillose und der Kaninchensyphilis. Im Vordergrunde der Untersuchungen standen in letzter Zeit die Verimpfungen von Blutserum, Sperma und anderen Körperflüssigkeiten in die Hoden von Kaninchen. Die positiven Resultate dieser Versuche werden in Bd. 64 1912 dieser Zeitschrift (Löffler-Festschrift) veröffentlicht, auf die hier hingewiesen wird.



Diskussion:

C. Fränken (Halle): Ich möchte Ihnen, meine Herren, hier einige Syphiliskulturen vorführen, die ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Sowade in Halle verdanke. Der eben genannte Herr hat jetzt in drei Fällen schon Reinkulturen der Syphilisspirochäten erzielt, indem er dabei folgendermaßen vorgegangen ist. Das von einem frischen Schanker ausgeschnittene Material wird zerquetscht und sodann mit einer starken Platinnadel in 8—10 cm hoch im Reagenzglase erstarrtes Pferdeserum eingebracht. Bei Aufenthalt im Brutschrank entwickelt sich hier schon im Laufe der nächsten Tage eine Kultur, die jedoch begreiflicherweise von zahlreichen anderen Mikroorganismen verunreinigt ist. Doch halten sich diese letzteren stets bzw. doch in den meisten Fällen nur längs des Stichkanals oder in seiner unmittelbaren Umgebung; die Syphilisspirochäten dagegen wandern, ihrer Eigenbewegung und der Schlankheit ihrer Form zufolge, von dem Stichkanal alsbald auch in die benachbarten Teile des Nährbodens und finden sich so schon vom 5. oder 6. Tage ab 2—3 mm von dem Stichkanal entfernt in den anliegenden festen Teilen des Nährbodens vor. Alsdann wird die Kultur mit 70 Proz. Alkohol übergossen, der in den Stichkanal eindringt und die hier gediehenen Mikroorganismen zerstört. Wird dann die Kultur nach sorgfältiger Sterilisierung der äußeren Glasflächen in keimfreie Petrischälchen gebracht, und werden hier mit sterilen Skalpellen kleine Teile der äußeren Schicht losgelöst, so kann man schon bei der mikroskopischen Untersuchung unter Umständen hier die Spirillen in Reinkultur nachweisen, sie in jedem Falle aber auf neues Pferdeserum übertragen. In diesem letzteren wird der Stichkanal mit sterilisiertem Paraffin nach oben abgeschlossen, die ganze Kultur in den Brutschrank eingestellt und nach Verlauf von 5—6 Tagen entstehen dann die kennzeichnenden Kolonien, wie Sie hier eine solche vor sich haben. Von hier aus kann man natürlich auch Uebertragungen in der gleichen Weise ausführen, und endlich will ich noch erwähnen, daß man ebenso auch erfolgreiche Verimpfungen auf Tiere vornehmen kann, unter denen besonders eine beim Kaninchen angegangene Uebertragung in die Hoden, sowie auch eine andere in die Blutbahn, in die Carotis, namentlich ins Auge ausgezeichnete Ergebnisse geliefert hat.

Graetz (Hamburg): Im Anschluß an die letzten Ausführungen des Herrn Mulzer über die erfolgreiche Uebertragung von Syphilisspirochäten auf die Hoden des Kaninchens vermittels des steril gewonnenen Venenblutes Syphilitischer, möchte ich in Kürze auf Versuche eingehen, welche Herr Oberarzt Dr. Aumann und ich gemeinsam am Hygienischen Institut in Hamburg im Rahmen unserer Studien über die experimentelle Syphilis und Reinzüchtung der *Spirochaeta pallida* ausgeführt haben. Auch uns ist es bei den einschlägigen Versuchen gelungen, durch Verimpfung des steril gewonnenen Venenblutes frischer Fälle von Syphilis, welches sich bei sorgfältiger Untersuchung im Dunkelfeld als spirochätenfrei erwiesen hatte, im Hoden der Kaninchen nach einer Inkubationszeit von ca. 6 Wochen spirochätenreiche Syphilome zu erzeugen. Unter fünf eigens ausgewählten Fällen war uns die Uebertragung der *Spirochaeta pallida* mit dem defibrinierten Blute bzw. mit dem Serum der betreffenden Patienten dreimal und zwar bei fast sämtlichen mit dem Material geimpften Kaninchen gelungen. Als besonders geeignet scheinen sich solche Fälle zu erweisen, bei denen die ersten Anzeichen einer Roseola eben wahrnehmbar sind, die also an der Grenze von Primär- und Sekundärperiode stehen. Auch wir haben das Blut bzw. Serum regelmäßig in einer Menge von 1½—2 ccm pro Hoden verimpft. Es ist uns ferner auch in allen Fällen gelungen, die betreffenden Spirochätenstämme in mehreren Passagen auf Kaninchen weiter zu züchten. Die zahlreichen Züchtungsversuche auf künstlichen Nährböden, welche wir bislang sowohl mit diesen direkt aus dem Blute gewonnenen absolut reinen Stämmen als mit Spirochätenstämmen angestellt haben, die uns in liebenswürdiger Weise von Exzellenz Ehrlich und Herrn Prof. Mühlens zur Verfügung gestellt worden waren, sind sämtlich fehlgeschlagen. Die peinliche Sorgfalt und die große Variation in den Nährböden, die bei diesen Züchtungsversuchen zur Anwendung kamen, läßt mich im Gegensatz zu Herrn Geheimrat Fraenken vermuten, daß nicht so sehr die mangelnde Technik als vielmehr bislang unbekannte Zufälligkeiten und namentlich Unterschiede im biologischen Verhalten der einzelnen Spirochätenstämme als Grund dafür angesehen werden müssen, wenn die Reinzüchtung der *Spirochaeta pallida* bislang nur in ganz vereinzelten Fällen gelungen ist.

Mulzer (Straßburg): So einfach, wie von verschiedenen Seiten in letzter Zeit die Züchtung der *Spirochaeta pallida* hingestellt wird, scheint sie doch nicht zu sein. Auch wir haben jüngst das Noguchische Verfahren in zahlreichen Fällen mit Material der experimentellen Kaninchensyphilis, das doch die *Spirochaeta pallida* in großen Mengen enthält, ange-

wandt, bis jetzt ohne Erfolg. Gemeinsam früher mit Händel und jetzt mit Dold haben wir an die viele hundert Röhrchen geimpft, ohne jedes Resultat. Zuletzt habe ich auch das Verfahren von Sowade in einigen Fällen versucht, war aber nicht imstande eine Kultur, geschweige denn auch nur eine Anreicherung der Spirochäten zu erzielen.

Szécsi (Heidelberg) weist darauf hin, daß es ihm schon bei dem ersten Versuch gelungen sei nach der Methode Sowade die Spirochäten in Reinkultur zu erhalten, während die Züchtungsversuche nach Noguchi mißlangen.

Mühlens (Hamburg): Das von Sowade angewandte Verfahren der Isolierung aus Mischkultur vom Rande der nach der Peripherie hin wachsenden Wolken ist zuerst von W. H. Hoffmann angegeben worden, dann auch von Noguchi angewendet. Ich möchte davor warnen, alle heutzutage als „Pallida-Kulturen" beschriebenen Stämme als Reinkulturen anzusehen.

Eisenberg (Krakau) macht darauf aufmerksam, daß bei Kulturversuchen nach Sowade speziell Verunreinigung mit Anaëroben leicht möglich erscheint. Es fand nämlich Koninski (Cbl. f. Bakter. XXXII. 569), daß Rauschbrand-, Oedem- sowie Tetanusbazillen in hochgeschichtetem Zuckeragar vom Impfstich aus in den Nährboden ausschwärmen, ohne daß besonders sichtbare Aenderung des letzteren sich eingestellt hätte. Es wird natürlich diese Erscheinung, die besonders deutlich bei niederer Temperatur eintritt, im halbweichen Serumnährboden noch leichter vor sich gehen, als im Zuckeragar.

IV. P. Mühlens (Hamburg):

Diapositiv-Demonstration über Züchtungsversuche von Spirochäten und fusiformen Bazillen aus Ulcus tropicum.

Zunächst gelang eine Mischkultur, bestehend hauptsächlich aus großen Spirochäten und fusiformen Bazillen, nach Einbringen von abgekratzten Gewebsstückchen in halbstarres Pferdeserum. Die kultivierten Spirochäten mit weiten Windungen zeichneten sich zum Teil durch enorme Länge (bis 150 μ) aus. Sie gingen in der dritten Generation ein, während die fusiformen Bazillen sowie ein vibrioartiger Mikroorganismus (ähnlich *Spirillum sputigenum*) in Pferdeserumagar im hohen Stich anaërob rein kultiviert werden konnten. Hervorzuheben ist, daß die fusiformen Bazillen namentlich in jungen Kulturen in langen Fäden wuchsen, an denen zum Teil mit Tuschefärbung seitenständige Geißelbüschel gesehen wurden. Ferner fanden sich in älteren Fusiformis-Rein-Kulturen auch deutliche Geißelzöpfe in verschiedenster Dicke und Länge, die sich nach Burri darstellen ließen und zum Teil Aehnlichkeit mit Spirochäten hatten. — Die Geißeln der gezüchteten fusiformen Bazillen (nach Giemsa blaugefärbt mit roten Chromatinkörnern) ließen sich leicht nach Löfflers Geißelmethode darstellen.



V. C. Fränken (Halle):

Untersuchungen bei Scharlach und Pocken.

Ich möchte, meine Herren, die Gelegenheit benutzen, um Ihnen an der Hand einer Reihe von bildlichen Darstellungen, die mit Hilfe von farbenempfindlichen Lumièreplatten mit dem mikrophotographischen Apparate aufgenommen sind, einiges über Erfahrungen zu berichten, die ich bei Untersuchungen über das Scharlachfieber und die Aetiologie der Pocken jüngsthin gewonnen habe.

Bei dem Scharlachfieber hat Doehle ja vor etwa einem Jahre mitgeteilt, daß er im Innern von Leukocyten häufig eigentümliche Einschlüsse wahrgenommen habe, über deren Natur er sich nicht genauer aussprechen wollte. Alsdann hat Kretschmer in Straßburg im März d. J. die Doehleschen Beobachtungen bestätigt und auch im Innern von weißen Blutkörperchen bei dem Scharlach Einschlüsse festgestellt, die sich unter anderen Verhältnissen nicht, bzw. nicht mit der gleichen Deutlichkeit und Regelmäßigkeit nachweisen ließen. Ich selbst habe bisher bei 12 Fällen von Scharlach die gleichen Untersuchungen angestellt und kann berichten, daß ich bei 9 derselben auch ähnliche Einschlüsse wahrgenommen habe. Dagegen fehlten sie trotz genauester Untersuchung bei 3 Fällen vollständig und waren ebenso auch bei einem Falle von Diphtherie, wenn auch hier verhältnismäßig seltener und vielleicht von etwas anderer Form, vorhanden. Dagegen habe ich sie bei zahlreichen anderen Krankheitsprozessen und bei gesunden Menschen vermißt, und so möchte ich denn hier ihre Bedeutung für die Diagnose des Scharlachfiebers immerhin als nicht ganz ausgeschlossen hinstellen, wenngleich ich mich auf Grund meiner bisherigen Befunde noch keineswegs zu der Anschauung habe emporschwingen können, als habe man es hier mit dem Erreger des Scharlachfiebers oder überhaupt mit Mikroorganismen zu tun. In den hier gezeigten Mikrophotogrammen werden Sie die Einschlüsse der Leukocyten unschwer wahrnehmen können.

Was dann die Pocken angeht, so wissen Sie ja alle, daß vor Jahren Guarnieri im Innern der Haut bzw. auch namentlich der Hornhaut des Kaninchens eigentümliche Einschlüsse beobachtet hat, die nur nach der Verimpfung von Variola- bzw. Vaccinevirus hervortraten. Zahlreiche Untersucher, unter denen ich von den hier Anwesenden Herrn Wasielewski nennen will, haben diese Beobachtungen durchaus bestätigt, und Herr Wasielewski hat schon damals in meinem Laboratorium durch sehr zahlreiche, fortgesetzte Uebertragungen von 30 Kaninchen in die Hornhaut und bei der von dem letzten Tiere wieder vorgenommenen glücklichen Verimpfung auf den Menschen bei Vaccine diese Gebilde in allen Fällen nachweisen können. Trotzdem ist der Einspruch gegen die ätiologische Bedeutung der Einschlüsse nicht ausgeblieben. Hückel und andere mehr haben Front gegen diese eben erwähnte Bewertung des *Cytorrhyctes variolae* gemacht, und namentlich eine Tatsache ist es, die auch mich trotz lebhaften Widerstrebens schließlich davon überzeugt hat, daß man es hier mit dem Erreger nicht zu tun haben könne, das

ist die Möglichkeit, das Variola- bzw. Vaccinekontagium durch keimdichte Filter zu schicken, ohne daß seine Uebertragbarkeit dadurch aufgehoben wird. Hier müßte es sich also um Mikroorganismen handeln, die doch erheblich kleiner sind als die Guarnierischen Körperchern, und man könnte sich unter den letzteren kaum etwas anderes vorstellen als eine spezifische Reaktion der Zellen gegen den bis dahin noch unbekannten Infektionserreger.

Diesen letzteren hat dann Paschen u. a. m. neuerdings auffinden zu können geglaubt in Gestalt außerordentlich kleiner, Mikrokokken-ähnlicher Gebilde, wie sie im Innern von Variolapusteln und ebenso von Vaccinebläschen des häufigeren nachzuweisen waren. Ich habe selbst im Laufe des letzten halben Jahres bei 11 Fällen von Variola, die sich in der Provinz Sachsen bei den Sachsengängern, das heißt aus russisch und österreichisch Polen bei uns eingewanderten landwirtschaftlichen Arbeitern ereignet hatten, diese Untersuchungen aufgenommen und bin dabei zu dem Ergebnis gelangt, daß in den letzten zehn Fällen sich in der Art regelmäßig derartige kleinste Elemente in den Pockenausstrichpräparaten nachweisen ließen. Sie ließen sich ferner auch auffinden in den Veränderungen auf der Cornea des Kaninchens, die mit frischem Pockenmaterial hergestellt war. Dagegen glückte es nicht, sie nach einer Verimpfung desselben in die Blutbahn der Tiere nachzuweisen, die sich im übrigen auch als ein ganz harmloser Eingriff ergab. Natürlich müssen weitere Untersuchungen über diese Frage lehren, inwieweit man überhaupt imstande ist, die hier in Rede stehenden Gebilde als Kennzeichen für eine Variolainfektion anzusehen bzw. über ihre ursächliche Bedeutung ins klare zu kommen. Die hier gezeigten Mikrophotogramme werden Ihnen von dem Aussehen, der Kleinheit und den scharfen Umrissen dieser Einschlüsse die nötige Vorstellung geben, ebenso wie ich Ihnen auch zum Vergleiche die Guarnierischen Körperchen vorführen werde.

Diskussion:

v. Wasielewski (Heidelberg): Die Ausführungen des Herrn Vortragenden bieten mir einen willkommenen Anlaß, meine Stellung zur Vaccinefrage, insbesondere meine Auffassung der Guarnierischen Körperchen in Ihrem Kreise kurz darzulegen.

Als ich vor 12 Jahren die Deutung Guarnieris als die wahrscheinlichste hinstellte, betonte ich gleichzeitig, daß ein zwingender Beweis für die Parasitennatur der Zelleinschlüsse noch nicht erbracht werden konnte.

Keine andere der damals denkbaren Erklärungen entsprach den Befunden annähernd in demselben Maße.

Seitdem haben vor allem die Chromidialtheorie R. Hertwigs und der inzwischen gelungene Filtrationsversuch der Lymphe den Gegnern der Parasitenhypothese neue Einwände geliefert. Die Verwertung der ersteren halte ich so lange für verfrüht, als ihre Anwendbarkeit für die Metazoenzelle nicht besser gestützt ist. Der besonders von dem um die Vaccinefrage verdienten v. Prowazek für die Kleinheit der Vaccineerreger ins Feld geführte Filtrationsversuch ist nicht so überzeugend als es scheinen könnte. Ich kann auch nicht anerkennen, daß die von mir beschriebenen kleinsten Vaccinekörperchen so sehr von den durch Prowazek sowie Paschen beschriebenen Jugendformen abweichen und halte es für möglich, daß sie bei dem angewandten Druck auch Berkefeldfilter passieren. Gegner der Guarnierischen Auffassung haben übersehen, daß auch ich schon gegen eine Deutung der Körperchen als „Protozoen" war und mich damit begnügte, als jüngste Erreger die kleinsten nur 0,25 μ im Durchmesser großen Kügelchen anzusprechen, welche meines Erachtens außerhalb der Hornhautepithelzelle auch heute noch nicht mit Sicherheit von Fällungs- und Entartungskügelchen unterschieden werden können; eine systematische Einreihung erklärte ich für unmöglich.

Ob sich die einander sehr nahestehenden Hypothesen von Prowazek und Paaschen



werden bestätigen lassen, wird weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben müssen. Zurzeit ist unsere histologische Technik nicht ausreichend dazu. Das ist auch der Grund, weshalb ich vorläufig eigene experimentelle Arbeiten auf diesem Gebiete vermieden habe. Unwahrscheinlich ist mir, daß Paaschen die hier vorgeführten Bilder als Beweise für seine Hypothese anerkennen würde: das Größenverhältnis der angeblichen Parasiten zu den Zellkernen spricht vielmehr dafür, daß hier nur Guarnierische Körperchen mittlerer und kleinerer Größe in den Schnitten photographiert wurden.

Noch schwieriger als bei der Variola und Vaccine ist die Erregerfrage bei Scharlach zu beurteilen. Ich glaube, daß kein genauer Kenner des Blutbildes zugeben wird, daß die bisher bei Scharlach beschriebenen Zelleinschlüsse der Leukocyten einen nennenswerten diagnostischen Wert besitzen: noch viel weniger ist ihre ursächliche Bedeutung auch nur wahrscheinlich gemacht.

Dold (Straßburg): Die von Herrn Geh. Rat Fränken erwähnten Untersuchungen von Kretschmer sind im Straßburger Institut unter Leitung von Herrn Geheimrat Uhlenhuth ausgeführt worden. Die Untersuchungen ergaben in fast allen Fällen von Scharlach das Vorhandensein der sogenannten Döhleschen Einschlüsse, während sie bei vielen anderen infektiösen und nichtinfektiösen Krankheiten, die Kretschmer untersuchte, fehlten, so daß man von einem gewissen diagnostischen Wert der Döhleschen Einschlüsse sprechen kann. Auch bei anderen Krankheiten (einmal bei Pneumonie, zweimal bei Diphtherie, einmal bei Tuberkulose) fand Kretschmer diese Einschlüsse. Ich selbst hatte erst kürzlich Gelegenheit bei einem Fall von epidemischer Meningitis zahlreiche Leukocyten mit Einschlüssen zu beobachten. Eine gewisse Vorsicht bei der diagnostischen Verwertung dieser Einschlüsse dürfte daher am Platze sein. Ich glaube, daß es sich bei diesen Einschlüssen um abgesprengte Kernteile handelt. Wenigstens sprachen bei den erwähnten Zelleinschlüssen bei Meningitis manche Beobachtungen für eine solche Genese.

Mühlens (Hamburg): Die von Herrn Fränken in Diapositiven gezeigten Gebilde entsprechen meiner Ansicht nach nicht den Paschenschen Körperchen; ich halte sie eher für junge Guarnierische Körperchen. Jedoch wird nur das mikroskopische Präparat ein sicheres Urteil gestatten.

Bruno Heymann (Berlin) erinnert an die Negrischen, die Trachom- und Blennorhöe-Körperchen usw. und bittet den Herrn Vortragenden um Bescheid, warum er anscheinend diese Gebilde von den Guarnierischen Körperchen abtrennt.

Bernhardt (Berlin): Was die von Herrn Fränken erwähnten von Döhle aufgefundenen Leukocyteneinschlüsse bei Scharlach betrifft, so hat bereits Döhle selbst mitgeteilt, daß er bei Kontrolluntersuchungen in einem Fall von Pneumonie und von Krebs dieselben Einschlüsse gefunden habe. Auch Kretschmer konnte sie bei Tuberkulose und bei Eiterprozessen usw. nachweisen. Ich selbst habe das Blut von 10 oder 11 mit frischem Scharlachexanthem Erkrankten daraufhin untersucht und kann die Döhleschen Befunde bestätigen. In allen Fällen waren die länglichen, oft birnförmigen, mit Manson sich dunkelblau färbenden Gebilde nachzuweisen. Ich habe sie dann weiterhin aber auch bei Masern, bei Tuberkulose und bei akutem Gelenkrheumatismus finden können; insbesondere bei dem letzteren waren sie in keiner Weise von den bei Scharlach gefundenen zu unterscheiden. Es handelt sich also jedenfalls um unspezifische, vielleicht unter Wirkung des Fiebers oder sonstiger Schädlichkeiten auftretende, intrazelluläre Einschlüsse, die ich auf Grund einzelner Uebergangsformen als färberisch veränderte Kernsubstanzen, Abschnürungs- oder Zerfallsprodukte der Kerne, halten möchte. Vielleicht daß weitere Untersuchungen mit anderen Methoden die Einschlüsse doch noch weiter zu differenzieren vermögen.

Die Einschlüsse hingegen, die sich bei Scharlach im Stadium des akuten Exanthems in der Epidermis, besonders schön im Stratum dentatum, auffinden lassen, und die am besten nach der neuen Giemsa-Methode tiefblau, aber auch mit anderen Färbemethoden, darstellbar sind, haben in ihren Anfangsstadien mit dem Kern sicherlich nichts zu tun. Viele dieser von mir auch bei frischen Scharlachsektionen konstant gesehenen Gebilde gleichen durchaus den von Mallory beschriebenen. Außer diesen konnte ich stets runde, innerhalb der Zellen meist in Vakuolen liegende Gebilde nachweisen, die alle Uebergänge von äußerst kleinen bis zu den erwähnten größeren, den Kern beiseite drängenden, und dann an die Guarnierischen Körperchen erinnernden Formen erkennen ließen. Die kleinsten Formen sind auch frei im Corium und den Drüsen nachweisbar. Die



Bedeutung dieser Gebilde ist freilich ebenfalls unklar. Für Produkte zerfallener Kerne oder resorbierter fremder Zellbestandteile möchte ich sie die kleinen Formen auf Grund zahlreicher Schnittuntersuchungen von sechs Scharlachfällen nicht halten. Ob es sich nicht aber um, vielleicht unter Wirkung des Virus eintretende, Degeneration, Vakuolisierung usw. im Protoplasma handelt, ist vorerst nicht zu entscheiden. Am ehesten möchte man sie noch für Produkte der Reaktion der Zelle gegenüber dem Virus halten. Bei der weiteren Entwicklung dieser kleinsten Formen, die wahrscheinlich erst agonal oder postmortal vor sich geht, besonders am Aufbau der mittleren und ganz großen, den Kern beiseite drängenden Gebilde sind sicherlich Kernsubstanzen beteiligt. Die von Mallory abgebildeten Rosettenformen habe ich nur einmal finden können, wenn auch oft in einer Zelle 5, 6, 8 der runden oder ovalen Gebilde zusammenliegend, und dann auch manchmal zirkulär angeordnet.

Für diejenigen Herren, die sich dafür interessieren, werde ich mir erlauben, morgen einige Präparate im Mikroskop zu demonstrieren.

C. Fränken (Halle): Gewiß wird man den von v. Wasielewski vorgetragenen Bedenken gegen die Bedeutung der Filtrationsversuche für die Kleinheit der Vaccineerreger vollste Beachtung schenken müssen. Indessen glaube ich vorläufig doch nicht, daß die von ihm geltend gemachten Momente die Gegner des ätiologischen Charakters der Guarnierischen Körperchen überzeugen werden. Jedenfalls verlangt die ganze Frage noch eine weitere Bearbeitung. Bemerken möchte ich nur zu der Eigenart der hier von mir vorgeführten Bilder, daß ich in den Schnittpräparaten ausschließlich Guarnierische Körperchen von vielfach ja ungemein charakteristischer Gestalt und Anordnung habe vorführen wollen. Nur die Ausstrichpräparate bringen zum Teil die Paschenschen Gebilde. Wenn Herr v. Wasielewski diese von mir auch hervorgehobene und wohl von ihm überhörte Bemerkung berücksichtigt, wird er wohl kaum noch Veranlassung haben, an der Beweiskraft meiner Mikrophotogramme Zweifel zu äußern.

Was die Bedeutung der Scharlachkörperchen angeht, so glaube ich schon in meinen Ausführungen genügend hervorgehoben zu haben, daß ich ihnen selbst eine ätiologische Bedeutung nicht zuspreche und daß ich sie auch nicht als belebte Wesen anzuerkennen vermag. Trotzdem bin ich der Meinung, daß diese Einschlüsse von einer gewissen Bedeutung für die Diagnose des Scharlachfiebers sind.

VI. v. Wasielewski (Heidelberg):

Zum Nachweis tierischer Parasiten in Gewebswucherungen.

Mit 1 Textfigur und Tafel I.

Unter den mannigfachen Reizen, welche die Entstehung bösartiger Geschwülste begünstigen, verdient die Bilharzia-Infektion besondere Beachtung. Nirgends treten Blasen- und Mastdarm-Krebse in solcher Häufung auf, als bei der männlichen Arbeiterbevölkerung Aegyptens, welche durch ihre stete Beschäftigung im Ueberschwemmungs- und Berieselungsgebiet der Infektion ständig ausgesetzt. Wenn auch der von den Bilharziaeiern ausgeübte Reiz zunächst nur gutartige Schleimhautwucherungen hervorbringt, so neigen dieselben doch auffallend häufig zu bösartiger Entartung. Was zur Bilharziainfektion hinzukommen muß, um diese Entartung zu bewirken, wissen wir nicht, dürfen aber annehmen, daß von Arbeitern, welche in Bilharziagegenden verschickt werden, ein verhältnismäßig großer Teil erkrankt. Leider ist die Bilharziakrankheit bisher nicht auf Versuchstiere übertragbar, somit vorläufig keine Aussicht durch Tierversuche diese Einflüsse genauer festzustellen.

Während auch vereinzelte Bilharziaeier im Gewebe leicht gefunden werden, wenn man die Schnitte mit Karbolfuchsin mit der für den Tuberkel-



bazillen üblichen Methode färbt, so werden andere tierische Schmarotzer sehr leicht übersehen.

Hieraus ergibt sich die Aufgabe, dem Nachweis tierischer Parasiten in wuchernden Geweben verschärfte Aufmerksamkeit zuzuwenden. Es ist das von verschiedenen Seiten, besonders von Borrel betont worden. Leider ist dieser Nachweis sehr umständlich und zeitraubend; die Methodik wenig entwickelt und das Wenige in Aerztekreisen kaum bekannt. Es ist deshalb nicht auffallend, daß über das Vorkommen tierischer Schmarotzer im Innern und in der Nachbarschaft von Gewebswucherungen widersprechende Angaben vorliegen.

Ich will auf die Schwierigkeiten, einzelne Protozoen in Gewebsschnitten aufzufinden, nicht näher eingehen. Wir bevorzugen hierfür die Romanowsky-Färbung. Es sind einige Präparate aufgestellt, welche die Leistungsfähigkeit derselben besser zeigen werden als Photogramme und Zeichnungen. Es war nicht zu vermeiden, Studien an freilebenden Protozoen (Kulturamöben und Trypanosomen) vorauszuschicken. Die ersten, mit Hirschfeld ausgeführt, von dem die aufgestellten Amöbenpräparate z. T. stammen, führten zu einer neuen Fixierungsmethode durch den Kulturagar hindurch (Lit.-Verz. 1—3). Die von Kühn und v. Schuckmann (5 u. 6) ausgeführten cytologischen Untersuchungen an Trypanosomen vervollkommneten die Technik der Feuchtbehandlung tierischer Blutparasiten. Sie bestätigten vor allem die Erfahrung, daß die Romanowsky-Färbung vieler Abstufungen fähig ist, welche beachtet werden müssen, wenn es sich um Darstellung feinster Einzelheiten des Zellbaues handelt (Demonstration farbiger Zeichnungen).

Ich wandte dann dieselbe Technik auf den Nachweis von Dysenterieamöben im Gewebsschnitt an (Demonstration von farbigen Photographien) (4).

Trotz der vorzüglichen Dienste, welche die Romanowsky-Technik dem Amöbennachweis leistet, ist die sichere Unterscheidung von Amöben und Gewebszellen auch hier nicht leicht; aber immerhin zuverlässiger als mit dem sonst gebräuchlichen Verfahren.

Auf die angeblichen Befunde von Protozoen in echten Geschwülsten gehe ich hier nicht ein. Unsere Technik gestattet vielfach noch kein sicheres Urteil darüber, ob es sich dabei um Zellentartungen oder Zellparasiten handelt.

Dagegen steht fest, daß höhere tierische Schmarotzer in Gewebswucherungen vorkommen und daß die letzteren sich dann von den durch pflanzliche Schmarotzer bedingten Granulationsgeschwülsten unterscheiden. Zunächst werden wir uns damit begnügen müssen, die Häufigkeit des Vorkommens der fraglichen Würmer und Gliedertiere festzustellen und zu untersuchen, wieweit wir imstande sind, ihren Nachweis exakt zu führen.

Unter den Gliedertieren sind die Haarbalgmilben besonders von Borrel beschuldigt worden, die supponierten Erreger von Epitheliomen zu übertragen, ebenso bei der Lepraübertragung, eine Rolle zu spielen. Diese Ansicht ist lebhaft bekämpft worden und es muß zugegeben werden, daß Borrels Beweisführung nicht erschöpfend ist. Es fehlt uns eine ausreichende Statistik über das Vorkommen von Demodex bei Gesunden und Kranken. Die Tatsache, daß Demodex keineswegs immer Krebs bedingt, liegt ja auf der Hand. Es sollte bei diesen Untersuchungen aber darauf geachtet werden, ob Demodex bei älteren Personen mit mangelhafter Hautpflege, welche bisweilen familienweise zu Gesichtsepitheliomen neigen, regelmäßig gefunden wird.

Der Nachweis von Demodex gelingt in zerquetschtem Comedoneninhalt

und in Zupfpräparaten von Gesichtshaut leichter als im Schnitt; bei Untersuchungen, die v. Schuckmann auf meine Veranlassung ausführte, bewährte sich hierfür besonders die bekannte Karbolfuchsin-Methylenblaumethode. (Die demonstrierten Bilder werden a. a. O. veröffentlicht.)

Von Interesse ist der Wucherungsreiz, welchen die Krätzmilben bei Ratten hervorbringen. Hier bereitet das Auffinden der massenhaft vorhandenen Milben keine Schwierigkeiten. Zurückzuweisen ist die Behauptung Sauls, daß aus meiner Abteilung diese Hautveränderungen (Demonstration) als epidemisch auftretende Geschwülste beschrieben worden seien. Davon kann keine Rede sein. Die auf meine Veranlassung durch Ascher (7) beschriebene Krätzform hat nur deshalb Interesse, weil die Parasiten gutartige Epithelwucherungen erzeugen (Fig. 1).

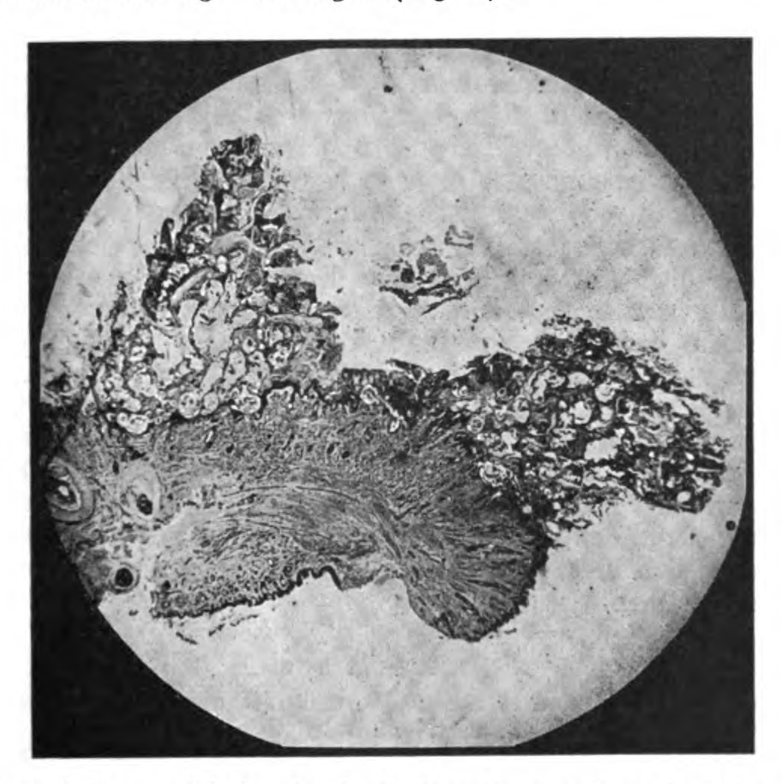


Fig. 1. Rattenkrätze. Schnitt durch die Nasenhaut mit zwei starken hornartigen Wucherungen, welche von Krätzmilben hervorgerufen sind. Vergrößerung 10fach.

Ist man bei dem Nachweis von Milben meist auf sorgfältige Durchmusterung von Serienschnitten angewiesen, so gilt das noch mehr für den Nachweis mikroskopischer Würmer. Größere Würmer und Wurmlarven wird der Kenner besser mit dem unbewaffneten Auge oder bei Lupenvergrößerung auffinden. Dazu ist jedoch einige Uebung in der parasitologischen Technik erforderlich. Man erhält gelegentlich durch Auffinden eines einzigen Wurmexemplars einen Hinweis auf eine Infektion, die man selbst in Serienschnitten übersehen hätte, zumal hier bei stark ausgebildeter Chitinhülle die Wurmschnitte leicht ausfallen. Dagegen ist man nicht einmal durch Celloidineinbettung völlig geschützt, wie ihnen die aufgestellten Präparate zeigen. Demonstration der Dispharagus-Infektion (Beschreibung siehe Tafelerklärung zu Tafel I und den unten folgenden Vortrag über Tiergeschwülste).

Hier erklärt die Anwesenheit von Helminthen das Zustandekommen von Wucherungen der Magenschleimhaut, die, gleichviel wie sie histologisch gedeutet wird, durch ihren Umfang das befallene Tier schwer schädigte. Rein epithelialer Natur sind auch die Wucherungen, welche Trichosoma in der Rattenblase hervorbringt. Die projizierten Mikrophotographien, die ich nach Loewensteinschen Präparaten angefertigt habe, zeigen Schleimhautwucherungen im Urogenitalsystem der Ratte, die gleichfalls durch Rundwürmer erzeugt werden (s. a. Loewenstein, Beitr. z. klin. Chir. Bd. 69. 1910).

In diesen beiden Fällen lagern die Helminthen direkt in der Schleimhaut. Aber auch vom Bindegewebe aus scheint ein Wucherungsreiz auf benachbartes Drüsengewebe ausgelöst zu werden, wie die neuerdings durch Haaland bestätigten Befunde Borrels zeigen, welcher zuerst die Entstehung von Mäusekrebsen auf die Anwesenheit von Nematoden zurückführte. Wieweit diese Schmarotzer bei der Krebsentstehung beteiligt sind, läßt sich zurzeit noch nicht übersehen; das werden erst eingehendere Untersuchungen entscheiden können. Wir selbst haben kürzlich ähnliche Nematoden in einem Wirbelsäulentumor der Maus nachgewiesen. Freilich lag hier daneben eine so ausgedehnte Sarkosporidiose vor, daß man zweifelhaft sein kann, ob der Befund vereinzelter Nematoden daneben ins Gewicht fällt.

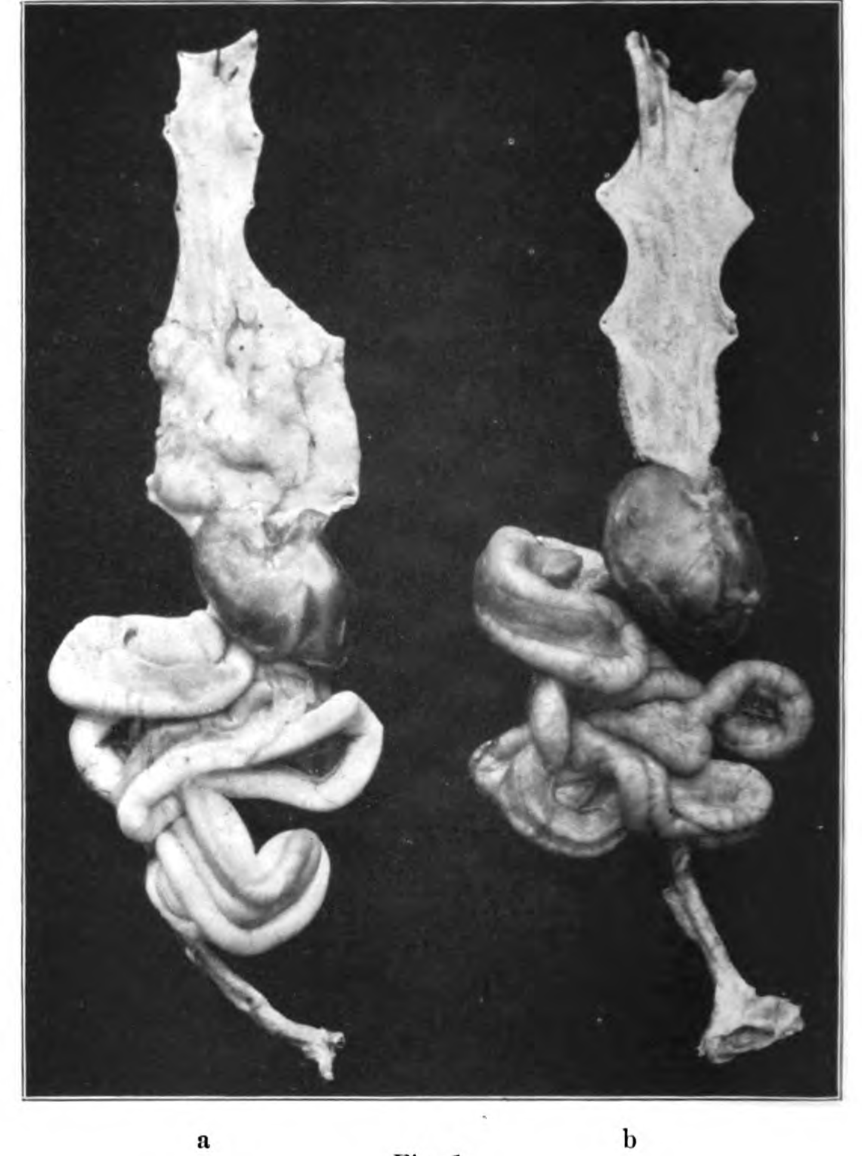
M. H., es liegt mit fern die ätiologische Bedeutung dieser Parasitenbefunde zu überschätzen. Es wird noch sehr mühsamer experimenteller Untersuchungen bedürfen, um festzustellen, unter welchen Bedingungen und wie häufig sie gutartige Gewebsneubildungen hervorbringen. Erst dann wird die Frage geprüft werden können, welche Reize hinzutreten müssen, um Krebs zu erzeugen. Mir lag heute nur daran, ihre Aufmerksamkeit auf dieses parasitologisch noch recht vernachlässigte Gebiet zu lenken und Sie zu bitten, derartige gelegentliche Befunde nicht als Curiosa zu behandeln, sondern das Material den Zielen der Geschwulstforschung nutzbar zu machen, sowie bei jeder sich bietenden Gelegenheit den Nachweis tierischer Schmarotzer üben zu lassen.

Schriften-Nachweis.

1. v. Wasielewski und Hirschfeld, Zur Technik der Amöbenuntersuchung. Hygien. Rundschau. 1909. No. 16.
2. Dieselben, Untersuchungen über Kulturamöben. Abhandlungen d. Heidelb. Akademie d. Wissensehaften. Jahrgang 1910. Abhandlung 1. Heidelberg. C. Winters Verlag.
3. Puschkarew, Zur Technik des Amöbens.udiums. Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XXVIII. 1911.
4. v. Wasielewski, Ueber Amöbennachweis. Münch. med. Wochenschrift 1911. No. 3.
5. Kühn und v. Schuckmann, Ueber den Bau und die Teilungserscheinungen von Tryp. brucei. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. d. Wissenschaften. 1911.
6. Dieselben, Cytologische Studien der Trypanosamen. Zoolog. Jahrbücher. Suppl. XXV. 1912.
7. Ascher, Beitrag zur Kenntnis der Rattenkrätze. Archiv f. Derm. und Syphilis. 1910. Bd. 101.



Vormagen →



a b

Fig. 1.



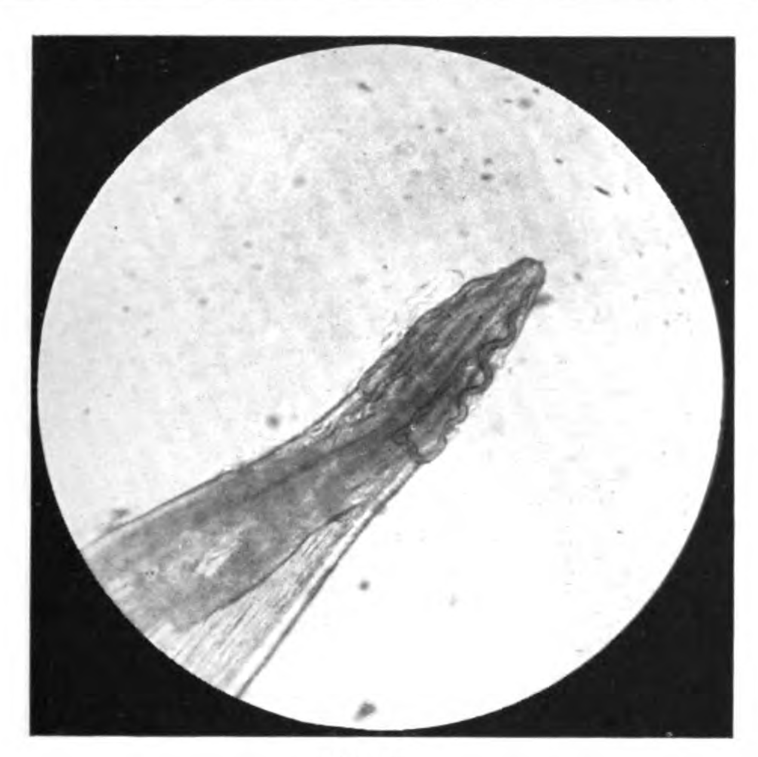


Fig. 2.



Fig. 3.

ıer in Jena.

VII. Küster (Freiburg i. B.):

Die keimfreie Züchtung von Säugetieren und ihre Bedeutung für die Erforschung der Körperfunktionen.

M. H.! Seit Pasteur im Jahre 1885 mit Bezugnahme auf die Duclauxschen Experimente mit sterilen Bohnen sich geäußert hatte, daß es von besonderem Interesse wäre, die Frage der Möglichkeit von keimfreiem Leben auch für Tiere zu entscheiden, hat es an mancherlei Versuchen, die in dieser Richtung angestellt wurden, nicht gefehlt.

Die Mehrzahl der Autoren kam zu dem Ergebnis, daß ein tierisches Leben ohne Keime nicht möglich sei.

Vor allen ist hier Schottelius zu nennen. Er fand in einer Reihe von Versuchen, daß keimfrei erbrütete Hühnchen bei keimfreiem Futter und keimfreier Luft auf die Dauer nicht lebensfähig waren. Infizierte er jedoch die keimfreien Hühnchen mit Coli- oder Milchsäurebazillen per os, so blieben dieselben unter sonst gleichen Versuchsbedingungen am Leben.

Zu gleichen Resultaten gelangten Mme. Metschnikoff und ebenso Moro bei der Züchtung von keimfreien Fröschen, Couvreur bei Seidenraupen.

Charrin und Guillemonat sowie Kianizin kamen sogar zu dem Schlusse, daß auch erwachsene Tiere nicht dauernd weiterleben könnten, wenn sie bei Zufuhr steriler Luft mit keimfreiem Futter ernährt wurden. Kianizin spricht sich sogar auf Grund seiner Experimente auch dahingehend aus, daß der Tod sterilgehaltener erwachsener Tiere nicht nur auf Verdauungsstörungen, sondern vor allem auch auf Störungen des Zellstoffwechsels, die sich z. B. in ungenügender Verbrennung der N-Substanzen äußert, zurückzuführen sei. Im Gegensatz zu den bisher kurz erwähnten Untersuchungen fanden Nutall und Thierfelder, daß mit Kaiserschnitt keimfrei entwickelte Meerschweinchen 12 Tage am Leben bleiben und keimfreies Futter verdauen konnten. Die Beweiskraft dieser Experimente wurde durch Schottelius erschüttert, welcher nachwies, daß auf die gleiche Weise gewonnene Meerschweinchen auch ohne Futter etwa 10 Tage aushalten konnten und daß die Gewichtszunahme, welche Nutall und Thierfelder bei ihren Versuchstieren erzielten, in die Fehlergrenze falle, welche durch eine Anfüllung des Darmes mit Nahrungsmittel herbeigeführt werden kann.

Im Februar dieses Jahres veröffentlichte Cohendy aus dem Institut Pasteur eine große Serie von Untersuchungen, nach denen es ihm gelungen war, Hühnchen keimfrei zu erbrüten, und bis zu 47 Tagen unter Gewichtszunahme bei keimfreiem Futter in keimfreier Luft am Leben zu erhalten.

Bei meinen eigenen Experimenten diente die Ziege als Versuchstier. Junge Ziegen besitzen erfahrungsgemäß eine große und lassen sich leicht mit der Flasche aufziehen. Zudem sind Ziegen gute Futterverwerter und dieses deutet auf intensive Verdauungskräfte hin. Wird der normale Ablauf derselben nur durch das Vorhandensein einer normalen Darmbakterienflora



garantiert, so muß der Wegfall derselben einen deutlichen Ausschlag geben. Genügen aber die Darmsäfte der Ziege allein ohne Unterstützung der Bakterien zur Verdauung, so ist jedenfalls die Ziege für keimfreie Züchtungsversuche sehr geeignet. Junge Ziegen sind außerdem genügend groß, um an denselben gleichzeitig sehr verschiedene Experimente (Stoffwechsel, Blut-Serumuntersuchungen) durchführen zu können.

Durch einen Vorversuch im Frühjahr 1911 konnte ich feststellen, daß es bei der nötigen Sorgfalt wohl gelingt, ein Ziegenlamm durch Kaiserschnitt lebend und keimfrei aus dem Uterus zu entwickeln. Die Operation wurde etwa 8 Tage vor dem Ende der Trächtigkeit vorgenommen. Mekonium und Fruchtwasser waren steril, das Orificium festgeschlossen. Das Junge kam asphyktisch zur Welt, aber nach wenigen Minuten traten unter künstlichen Atembewegungen normale Atemzüge ein. Das Muttertier vertrug den Eingriff unter Chloroform-Aether-Narkose mit dem Braunschen Apparat sehr gut; die Wunde heilte per primam und etwa vom 8. Tage nach der Operation ab konnte die Milch zur Ernährung des Jungen Verwendung finden. Das Junge wurde unter natürlichen Bedingungen gehalten, aber alle Nahrung vorher sterilisiert. Die Entwicklung desselben blieb unter diesen Umständen hinter der eines normal ernährten Kontrolltieres nicht zurück.

Durch diesen Vorversuch war sichergestellt, daß ein Ziegenlamm lebenskräftig durch Kaiserschnitt keimfrei gewonnen werden kann und daß die Sterilisation des Futters für seine Ernährung bei Vorhandensein von Darmbakterien, wenigstens für die ersten 6 Lebenswochen nicht ungeeignet macht.

Der Hauptversuch wurde in diesem Frühjahr ausgeführt und war in folgender Weise vorbereitet:

Aus Glas und Eisen wurde ein bakteriendichter Versuchsraum mit etwa 1 cbm Inhalt gebaut, der mit Vitralin angestrichen war und durch Einleiten von Formalindämpfen leicht und sicher sterilisiert werden konnte.

Die ganze Einrichtung möchte ich Ihnen an der Hand einiger Projektionsbilder demonstrieren:

Die Atemluft erhält das Versuchstier durch eine Druckluftpumpe, die von einem Motor getrieben pro Stunde 1,5—10 cbm Luft mit ½ Atm. Ueberdruck in den Versuchsraum einpreßt. Die Luft durchströmt den Raum und kann an der entgegengesetzten Seite durch eine Gasuhr mit Glyzerinfüllung entweichen. Die Keimfreiheit der Atemluft wird auf folgende Weise erzielt: Vor der Pumpe, am Ansaugventil, ist ein großes steriles Wattefilter vorgeschaltet, das gröbere Staubpartikelchen zurückhält. Nach Passieren der Pumpe und eines Windkessels wird die Luft durch ein zweites steriles Wattepolster, dann zum Trocknen und Sterilisieren in kleinen Blasen durch konzentrierte Schwefelsäure, durch ein drittes Wattefilter und endlich durch eine elektrische Heizröhre, die eine Erwärmung auf 150° gestattet, in den Versuchsraum getrieben.

Auf den beiden Längsseiten des Versuchsraumes sind zwei paar Gummihandschuhe keimdicht eingelassen. Die Handschuhe gestatten mit beiden Armen gleichzeitig bis zur Schulter in den Kasten einzufassen und die Abmessung des letzteren sind so gewählt, daß man jede Stelle des Innenraums bequem erreichen kann; auch können zwei Personen beim Arbeiten im Versuchsraum sich gegenseitig unterstützen.

Der Zugang zu dem Versuchsraum wird durch einen angebauten Vor-



raum dargestellt, welcher eine nach außen und eine zweite nach dem Innern sich öffnende verschraubbare Klapptür besitzt. In diesem Vorraum befindet sich eine elektrische Heizplatte. Soll nun sterile Nahrung, Instrumente oder dergl. in den keimfreien Innenraum gebracht werden, so wird dieselbe vorsterilisiert in den Vorraum eingestellt und die äußere Tür verschraubt; durch Einschalten der elektrischen Heizung in diesem nochmals sterilisiert, die innere Tür durch Einfassen in die Handschuhe geöffnet und der sterile Inhalt in den Innenraum hineingenommen.

Keimfreier Aufenthalt, keimfreie Zufuhr von steriler Luft und Nahrung sind bei dieser Versuchsanordnung für das Versuchstier nach Möglichkeit gesichert. Die größte Schwierigkeit bot das Einbringen des sterilen Tieres in den Kasten.

An den Versuchskasten wurde ein Operationszelt aus Verbandgaze so angebaut, daß die Tür des Vorraums in den Operationsraum hineinragte. Während der Operation war der Kopf des Muttertieres zur Vornahme der Narkose außerhalb des Gazeschleiers gelagert. In dem Operationsraum befand sich der Körper des Tieres, der Operateur mit seinen Instrumenten und die Assistenz. Während der Operation wurde das Innere des Operationszeltes zur Abhaltung von Luftkeimen unter Wasserstoffsuperoxydspray gehalten.

Der Kaiserschnitt wurde in der Flanke durchgeführt. Das Operationsfeld wurde rasiert, nach der Bolusmethode Liermann desinfiziert, das ganze Tier mit Lysollösung wiederholt gewaschen.

Um das Leben des Jungen nicht zu gefährden, muß bei der Operation möglichst rasch zu Werke gegangen werden. Das entwickelte Junge wird abgenabelt, von dem Operateur durch den geöffneten Vorraum in das Innere des Kastens gereicht und dort in Empfang genommen. Während dieser Einführung ist die Luftzufuhr auf Höchstleistung der Pumpe eingestellt. Diese vermag pro Stunde 10 cbm sterile Luft in den Versuchsraum zu pressen und erzeugt dabei bei geöffneten Vorraumtüren einen starken, nach außen gerichteten Luftstrom, der das Eindringen von Luftkeimen durch den Vorraum in das Innere ausgeschlossen erscheinen läßt.

Es gelang ein lebendes keimfreies Ziegenlamm zu erhalten. Dasselbe blieb 12 Tage wie die regelmäßigen Harn- und Fäcesuntersuchungen ergaben, keimfrei und nahm während dieser Zeit von vier auf sechs Pfund zu. Da das Muttertier sich bei der Operation als doppelt gravid erwies, so gelang es sehr einfach, ein geeignetes Kontrolltier zu erlangen. Dieses war bei der Geburt zwei Pfund schwerer als das sterile Tier, wurde genau wie dieses ernährt und machte, wie die Kurve zeigt, geringere Fortschritte in der Gewichtszunahme.

Am 13. Lebenstage wurde durch einen unglücklichen Zufall das Versuchstier mit Heubazillen infiziert. Diese Infektion war für das weitere Gedeihen des Versuchstieres ohne den geringsten Einfluß und der Versuch wurde am 35. Tag abgebrochen. Das Kontrolltier wies sofort nach der Entleerung des Mekoniums mit den ersten Milchfäces die übliche Bakterienflora des Ziegendarms auf. Die Fäces des Versuchstieres waren zum Unterschied der Kontrolle niemals geformt, sondern immer breiig zäh zusammenhängend. Es scheint demnach die Eindickung der Fäces in keimfreiem Darm verringert zu sein. Harn und Fäces der Tiere wurden regelmäßig gesammelt und für die chemische Untersuchungen konserviert. Dieselbe ist noch nicht beendet, zeigt aber, soweit sich bis jetzt



überschauen läßt, keine besonderen Unterschiede. Ebenso hat die Untersuchung des Blutbildes, des Blutserums, sowie der Organe bisher zwischen sterilem Tier und Kontrolltier keine Abweichungen ergeben.

Ich glaube durch dieses Experiment bewiesen zu haben, daß es bei der geschilderten Versuchsanordnung möglich ist, keimfreie größere Säugetiere zu gewinnen und wenigstens bei Milch- und Haferschleimernährung wochenlang keimfrei am Leben zu erhalten. Diese Tatsache eröffnet ein neues und aussichtsreiches wissenschaftliches Forschungsgebiet, welches sich etwa durch folgende Fragen begrenzen läßt:

1. Wie verdaut und resorbiert ein keimfreies Tier bei natürlicher Nahrung?
2. Wie verdaut und resorbiert ein keimfreies Tier bei künstlichen Nährpräparaten z. B. Eiweißersatzstoffen?
3. Wie entwickelt sich beim keimfreien Tier natürliche und künstliche Immunität?
4. Wie verläuft die Wundheilung beim keimfreien Tier?
5. Wie findet der Abbau von pharmazeutisch-therapeutischen Präparaten im keimfreien Tier statt?

VIII. Lange (Dresden):

Demonstration eines „polytropen" Nährbodens „PN".

Bulíř (Arch. f. Hygiene Bd. 62. S. 1. 1907) hat vor mehreren Jahren eine Modifikation des Eijkmannschen Verfahrens zum Nachweis des *Bacterium coli* angegeben, nach welcher es gelingt, durch Benutzung eines einzigen in ein Gärkölbchen eingefüllten Nährbodens und durch eine einfache chemische Reaktion die sichere Diagnose zu stellen, ob typisches *Bacterium coli* vorliegt oder nicht. Das von Bulir angewandte Prinzip, an ein und demselben Nährboden eine möglichst große Anzahl von voneinander unabhängigen Eigenschaften des eingeimpften Bakterienstammes in die Erscheinung treten zu lassen, schien mir einer weiteren Ausbildung und Verwertung fähig. So habe ich schon vor 3 Jahren durch Herrn stud. Joh. Killig dahingehende Versuche anstellen lassen, die aber damals noch nicht ganz zum erwünschten Abschluß kamen. Erst nachdem ungefähr 50—60 Modifikationen[1]) durchgeprüft waren — wobei sich biologisch sehr interessante Beobachtungen anstellen ließen, auf die ich erst in der ausführlicheren Veröffentlichung eingehen kann — glaube ich, eine brauchbare Zusammensetzung für einen Nährboden gefunden zu haben, dem ich den Namen „polytrop" gegeben habe, weil er sich nach den verschiedensten Richtungen hin unter dem Einfluß der eingeimpften Bakterienart verändern kann und eben durch diese verschiedenen Veränderungen rasch und bequem einen Schluß auf die Art der vorliegenden Keime zuläßt.

Besonders für die Erkennung und Einordnung der ein so vielgestaltiges kulturelles Bild darbietenden Darmbakterien der Coli-, Paratyphus-,

[1]) Weitere 20 in der letzten Zeit geprüfte Modifikationen führten zu keiner wesentlichen Aenderung mehr, sondern bezogen sich hauptsächlich auf Abkürzung der zur Herstellung des Nährbodens nötigen Zeit.



Typhus-Gruppe und namentlich der sog. „Zwischenstämme“, der „Blaustämme“ Sobernheims oder Paratyphus C-Stämme Uhlenhuths und Hübeners hat sich mir die Benutzung des polytropen Nährbodens („PN“) seit langem sehr bewährt.

Bei der Zusammensetzung des Nährbodens nahm ich mit Absicht von der Verwendung solcher Bestandteile Abstand, die, wie z. B. die Pentosen Arabinose und Xylose nach Schern, nur von einzelnen Stämmen ein und derselben Gruppe angegriffen bzw. verändert werden und die dadurch eine noch weitergehende Spaltung und Verwicklung herbeigeführt hätten. Nicht weitere Abspaltung und Differenzierung auf Grund akzidenteller kultureller Eigenschaften, sondern Zusammenfassung auf Grund eines Komplexes von wenigen, aber „typischen“ und voneinander unabhängigen Eigenschaften scheint mir gerade in der Zeit der „Mutationen“ erstrebenswert zu sein.

Der Nährboden sollte außerdem leicht und rasch und derartig gleichmäßig herstellbar sein, daß die Umschläge stets in gleicher Weise erfolgen. Durch möglichste Herabsetzung der Konzentration der einzelnen Nährstoffe sollten einerseits die Bakterien sozusagen gezwungen werden, jeden einzelnen Bestandteil, soweit sie dazu überhaupt in der Lage sind, anzugreifen. Andererseits gebot das Bestreben, die eingeimpften Keime zu genügend rascher Vermehrung und damit zur charakteristischen Veränderung des Nährbodens zu bringen, die Einhaltung gewisser Minimalgrenzen. Schließlich wurde von der an sich schon vorhandenen und viel — aber vielleicht doch immer noch zu wenig — ausgenützten Eigenschaft der Gärkölbchen, Gasbildung, Wachstum im geschlossenen „anaëroben“ Schenkel oder nur in der offenen „aëroben“ Kugel Gebrauch gemacht, wie dies schon Bulíř tat.[1])

Im folgenden sei nun in möglichster Ausführlichkeit die Herstellung des polytropen Nährbodens „PN“ mitgeteilt.[2])

I. 1300 g Wasser, 2 g Fleischextrakt (Liebig), 5 g Kochsalz, etwa 1½ g Nutrose, 3 g Pepton (Witte) in Emailletopf auf offener Flamme unter Umrühren kochen. Nach dem ersten Aufwallen 2—3 ccm 10proz. Sodalösung zusetzen (rosa Lackmuspapier muß deutliche alkalische Reaktion anzeigen). Bei verminderter Flamme 30 Minuten lang in ruhigem Kochen erhalten, dann 10 g Milchzucker zusetzen und noch 10 Minuten kochen.

Die Mischung ist inzwischen auf etwa 6—800 ccm eingedickt und wird mit Aqua dest. auf genau 1 l aufgefüllt und heiß filtriert. (Das Filtrat darf im Literkolben leicht opaleszieren, muß aber im Reagenzglas ganz klar erscheinen.)

II. In 200 ccm Lackmuslösung (Kahlbaum) werden 2 g Mannit gelöst und 15 Minuten im Wasserbad gekocht.

III. Neutralrotlösung 1:1000 (30 Minuten im Dampf sterilisiert) (II und III sind vorrätig zu halten).

Zu 500 ccm Filtrat von I werden 20 ccm II zugesetzt (wenn hiernach

[1]) Doppelröhrchen nach Durham (s. bei Seiffert, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63, S. 276) eignen sich für unsere Zwecke wegen der „Farbendeckung“ weniger gut.

[2]) In die in der Sitzung vom 30. 5. 12 verteilte hektographische Anweisung haben sich leider einige Fehler eingeschlichen (3 g Extrakt statt 2 g; Zusatz von 20 ccm von III statt 10 ccm).



die Mischung in dünner Schicht nicht deutlich blau ist, noch einige Tropfen Normal KOH zusetzen) darauf Zusatz von 10 ccm III.[1])

Die fertige Mischung 20 Minuten im Kolben und 20 Minuten in sterile Gärkölbchen eingefüllt im Dampf sterilisieren! (Die Gärkölbchen müssen gut gereinigt und von Resten von Soda- oder Salzsäurelösung frei sein.)

Als „Grundnährsubstanzen" dienen also Fleischextrakt, Kochsalz, Nutrose und Pepton, als „Hilfsreagenzien" Milchzucker und Mannit, als „eigentliche" Reagenzien Lackmus und Neutralrot.

Die Nutose wirkt selbst in der angewandten schwachen Konzentration sehr wachstumsbefördernd, bringt aber, wenn man die angegebene Vorschrift der Zubereitung nicht ganz genau befolgt und namentlich, wenn die Reaktion zu stark alkalisch geraten sein sollte, den Nachteil mit sich, daß das Filtrat von I u. U nicht genügend klar durchläuft, oder erst nach häufig wiederholtem Filtrieren in der Kälte genügend klar wird.

Deshalb sei noch eine zweite Zusammensetzung des Nährbodens angegeben, in der Nutrose fehlt, dafür aber der Gehalt an Pepton und Fleischextrakt erhöht ist:

Etwa 1100—1200 ccm Wasser mit 5 g Fleischextrakt, 5 g Kochsalz, 12 g Pepton werden 25 Min. auf offener Flamme unter anfänglichem Umrühren gekocht. Filtrieren. Zu 1000 ccm Filtrat (ev. mit Aq. dest. auffüllen!) werden 40 ccm Lackmuslösung (ohne Mannit) 20 ccm Neutralrotlösung 1:1000, 10 g Milchzucker, 1 g Mannit und 3 ccm Norm.-NaOH zugesetzt. 20 Min. im Dampf erhitzen, in sterile Gärkölbchen einfüllen und nochmals 20 Min. sterilisieren!

In dieser nutrosefreien Modifikation erfolgt der charakteristische Umschlag etwas später, als in der zuerst angegebenen Lösung. Das Endergebnis nach etwa 24—36 Stunden ist aber das gleiche.

Beide Nährböden sind in längstens 2 Stunden zum Gebrauch fertig hergestellt. Die unbeimpfte Lösung besitzt eine schokoladenbraune Farbe, die bei etwas schwächerer Alkalinität mehr in das weinrote, bei etwas mehr Alkaligehalt in das graubraune hinüberspielt. Derartige Differenzen sind aber für die endgültige Veränderung des Nährbodens ohne Einfluß, höchstens daß diese, wenn der Nährboden zu weinrot, d. h. zu wenig alkalisch ist, etwas später erreicht wird.

Die Bebrütung der Gärkölbchen erfolgt am zweckmäßigsten bei 37 bis 38° C; kann bei Coli nqtürlich auch bei 46° vorgenommen werden.

Die Veränderungen des Nährbodens durch den Einfluß der eingesäten Bakterien bestehen in etwaigen Farbumschlägen und im Auftreten von Gas und zwar von mindestens 1 ccm Gas, falls der Milchzucker, und von nur einer kleinen Menge Gas — höchstens $^1/_4$—$^1/_3$ ccm —, falls nur der Mannit unter Gasbildung zersetzt wird. Eine etwaige Reduktion des Neutralrotes zu dem gelben oder grünlich fluoreszierenden Farbstoff tritt meist nur im anaëroben, geschlossenen Schenkel auf. Säurebildung macht sich durch scharlach- bis karmin(rosen)rote Färbung, Alkalibildung durch graurote, bald ins Graublaue umschlagende Verfärbung bemerkbar.

Daneben ist an der Trübung erkennbar und darauf zu achten, ob die Bakterien überhaupt im „anaëroben" Schenkel zu wachsen vermögen oder ob das Wachstum nicht an der für die obligaten Aeroben charakteristischen

[1]) Will man nicht das ganze Filtrat sofort weiter verarbeiten, so ist der Rest 20 Minuten zu sterilisieren und kann beliebig später verwandt werden.



Grenzlinie abschneidet, wobei u. U. trotzdem noch durch Diffusion der gebildeten Stoffe Farbumschläge im anaëroben Schenkel eintreten können.

Wenn man sich nun eine Reihe von Gärkölbchen mit Reinkulturen der für Fäces-Untersuchungen besonders in Betracht kommenden Arten der oben genannten Gruppe beimpft, wird man schon nach 16—20stündiger Bebrütung äußerst charakteristische Veränderungen wahrnehmen, die teilweise später noch zunehmen, aber nach 36 Stunden im wesentlichen beendet sind. Bei noch längerem Stehen werden die Farbumschläge womöglich noch intensiver.

Die einzelnen in Betracht kommenden Bakterienarten geben folgende typischen Ausschläge:

1. *Bact. coli commum.* Nach 16—24 Stunden: Reichliche Gasbildung (Vergärung von Milchzucker + Mannit), starke Trübung und rosenrote Verfärbung im anaëroben Schenkel wie in der Kugel (Säurebildung!). Nach 36 Stunden: Anaërober Schenkel orange bis hellgelb (Reduktion von Neutralrot), offener Schenkel (Kugel) rosenrot bis purpurrot.
2. *B. lactis aerogenes.* Nach 16—24 Stunden wie 1. nur weit mehr Gas gebildet; nach 36 Stunden und später „anaerob“ Gelbfärbung, „aërob“ mehr orangefarben.

Das für die Coli-Gruppe typische Gesamtbild geben auch solche „Modifikationen“ des *B. coli*, die direkt aus Fäces-Abstrichen auf Endoplatten farblos oder auf Drigalski-Conradi-Platten blau oder nur leicht rosa wachsen. Ebenso verhalten sich die auf Agar üppig-saftig und wenig durchsichtig wachsenden und die mehr dünnen, durchscheinenden irisierenden Kolonien bei Ueberimpfung in den „PN“ ganz gleich.

3. *B. paratyphi A.* Nach 16—24 Stunden: Kein Gas. Gelbfärbung im anaëroben Schenkel, graurote Färbung im anaëroben Teil; nach 36 Stunden und später nur wenig verändert, höchstens „anaërobe“ Gelbfärbung (Fluoreszenz) etwas intensiver geworden.
4. *B. paratyphi B*, *B. enteritidis* Gärtner, „Rattenbazillen“ und „Mäusetyphus“ verhalten sich auch im „PN“ einander gleich. Nach 16—24 Stunden: Eine Gasblase etwa von Erbsengröße, höchstens $^1/_3$ ccm hat sich gebildet (nur der Mannit ist vergast!). Meist schon intensive Gelbfärbung mit grüner Fluoreszenz im anaëroben Teil, „aërob“ graurot oder schon graublau; nach 36 Stunden: Anaërobe Gelbfärbung hat wenn möglich noch zugenommen, „aerob“ graublau mit Stich ins Graugrüne (Alkalibildung).

Für die Angehörigen der Paratyphusgruppe ist also der frühzeitige Umschlag des anaëroben Schenkels in Gelbfärbung, die Bildung von nur wenig Gas und die Graurot- bis Graublau- später sogar Blaugrün-Färbung im offenen Schenkel charakteristisch. 16 von mit geprüfte Stämme, die entweder mit B-Serum oder mit Enteritis-Serum bis zur Titergrenze agglutinierten, verhielten sich übereinstimmend. Daneben habe ich aber eine große Zahl von „Blaustämmen“ aus Fäces, Fleischwaren, Wasser usw. in raschester und einfachster Weise als kulturell zu der vorliegenden Gruppe gehörig feststellen können, die, wie bekannt, agglutinatorisch nur durch Eigenserum zu beeinflussen sind.

Ohne Zweifel werden auch die Pestifer-Stämme das gleiche Verhalten aufweisen. Wie schon oben erwähnt, eignet sich der „PN“ ganz besonders für die Einordnung der „Blaustämme“.

Die auf den Blauplatten ebenfalls blau wachsenden Proteus-Arten lassen sich im „PN" vom Paratyphus B und „Gärtner" nach meinen allerdings etwas spärlicheren Erfahrungen abtrennen durch ausnahmslosen Mangel jeglicher Gasbildung. Sie ähneln im Verhalten den Paratyphus A-Stämmen, indem auch bei ihnen nach längerer Bebrütung der aërobe Schenkel immer etwas graurot bleibt und erst sehr spät und nicht immer etwas mehr blaugrau wird. Die Diagnose: Proteus ist ja aber auch, ohne daß man die Gelatine heranziehen müßte, durch das überflutende Wachstum vom Agarstrich aus sowie durch den Geruch höchst einfach, ebenso wie durch die bekannten Merkmale die Diagnose des Pyocyaneus erleichtert ist, das nach dem Verhalten im „PN" ungefähr der gleichen Gruppe einzuordnen ist.

5. *Bact. typhi abdominalis.* Nach 16—24 Stunden: Keine Spur Gas. Trübung und Rosafärbung im ganzen anaëroben Schenkel und in der Kugel. Nach 36 Stunden und später: Im aëroben Teil mehr violette Färbung. Natürlich nie Gasbildung.

Sehr ähnlich wie Typhus verhalten sich die Ruhrstämme (Shiga-Kruse und Flexner) und nach Beobachtungen, die ich erst in der allerletzten Zeit gemacht hatte, einige andere gelatine-nicht verflüssigende, gramnegative Stäbchen, die durch keines der mir zur Verfügung stehenden Sera der „Pathogenen" im geringsten beeinflußt werden. Es handelt sich um kulturell oder wenn man will biologisch „inerte" Arten, die außer der Säurebildung im „PN" keine weitere Veränderung auslösen.

Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, daß der „PN" die Agglutinationsprüfung keinesfalls ausschalten oder auch nur eindämmen soll. Man wird nur einen Hinweis für die Art der zu verwendenden Sera erhalten. Aber für die rasche Einordnung der außer durch Eigenserum nicht agglutinablen Stämme leistet er gute Dienste.

6. *Bact. faecalis alcaligenes.* Nach 16—24 Stunden: Wachstum nur im aëroben Schenkel (Kugel). Gelbbraunfärbung oder manchmal auch graublaue Verfärbung. Nach 34 Stunden und später: Die Trübung in der Kugel hat zugenommen, ebenso die Intensität der Verfärbung, ob diese nun mehr gelbbraun war oder mehr graublau.

Die Gruppe des *B. faecalis alcaligenes* umschließt mehrere Varietäten. Sie ist nach Klimenko sehr nahe verwandt mit dem *B. fluorescens non liquefaciens* und würde eine nicht fluoreszierende Barietät darstellen. Tatsächlich geben auch im „PN" die Fluoreszenten, aber nur bei Zimmertemperatur, da sie bei 37° überhaupt nicht wachsen, ganz das Veränderungsbild wie die *Faecalis alcaligenes*-Stämme. —

Bei ausgedehnterem Gebrauche des „PN" wird man bald eine große Gewandtheit in der Beurteilung von solchen Ergebnissen erlangen, die nicht ganz genau mit den geschilderten Reaktionsumschlägen übereinstimmen, man wird sozusagen die verschiedenen von einem einzigen Kölbchen gemachten Angaben „ablesen" lernen. So wird man bald auch die Veränderungen kennen lernen, die Kokken- oder Sporenbildner usw., in den Kölbchen hervorrufen. Bei ganz überraschendem Ausfalle des Impfergebnisses hat sich mir fast immer herausgestellt, daß eine Mischkultur vorlag. Die Forderung, mit Reinkulturen beimpft zu werden, stellen aber auch alle übrigen zu diagnostischen Zwecken angegebenen flüssigen oder festen Nährböden.

Der „PN" hat jedoch meines Erachtens vor diesen den Vorzug, daß er eine ganze Reihe von Einzelnährböden, wie Lackmusmolke, Mannit-Lackmuslösung, Neutralrotagar, Milchzuckerbouillon, Milchzuckeragar usw. ersetzt bzw. vereinigt. Möge er gleich dem „polytropos" Odysseus zu einem „vielgewanderten" und „vielgeprüften" werden!

(Eine Reihe von mit verschiedenen Stämmen beimpften und 24 bzw. 48 Stunden bebrüteten Gärkölbchen wurde demonstriert.)

IX. H. Conradi und P. Troch (Halle):

Ein Verfahren zum Nachweis von Diphtheriebazillen.

I.

Die Herstellung der neuen Nachweisplatte geschieht so: Zu 1000 ccm Wasser gibt man 10 g Fleischextrakt, 5 g Kochsalz, 20 g Pepton sicc. Witte und 6 g Calcium bimalicum. Das Gemenge wird ½ Stunde im kochenden Dampftopf gehalten, dann wird filtriert. Dem schwach sauer reagierenden Filtrat wird Traubenzucker zugefügt und zwar 1 g auf 100 ccm Bouillon. Von dieser Bouillon wird ein Teil zu drei Teilen frischen Rinderserums gegeben. Zu 100 ccm dieses fertigen Gemischs setzt man noch 2 ccm einer 1 proz. Lösung von Kalium tellurosum hinzu. Schließlich wird die durchmischte schaumfreie Flüssigkeit auf Petrischalen verteilt, deren Glasdeckel innen mit saugfähigem Papier belegt ist.[1]) Dann läßt man das Serum auf einer eigens konstruierten „Erstarrungsplatte",[2]) die auf 85° C eingestellt ward, fest gerinnen, indem die Petrischalen oben darauf ¼ Stunde lang verweilen. Diese Sterilisation kann zumal im Sommer öfters erfolgen.

II.

Das Verfahren wird in folgender Weise ausgeführt: Wir verwenden nacheinander zuerst die Löfflersche Serumplatte und dann die Tellurplatte. Die Löfflerplatte dient zur Anreicherung, sowie zum Nachweis, die Tellurplatte nur dem letzteren Zweck. Zur Anreicherung der Diphtheriekeime wird eine mit dem infizierten Wattetupfer gleichmäßig verstrichene Löfflerplatte 3 Stunden bei 35° gehalten. Danach wird die eine Hälfte der Löfflerplatte mit einem sterilisierten, in steriler physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Wattespatel[3]) sorgfältig abgeridben. Der so beschickte Wattespatel wird auf ein bis zwei Tellurplatten ausgestrichen und letztere 20 Stunden bei 35° C gehalten. Ferner verwahrt man die teil-

---

[1]) Diese „Platte-Trockner" sind aus saugfähigem Papier bestehende Einlagen, die eine Metallfeder an die Innenseite des Glasdeckels anpreßt. Sie verhüten Ansammlung von Kondenswasser. Beziehbar sind sie von F. & M. Lautenschläger in Berlin.

[2]) Die für Schalen und Röhrchen bestimmte „Erstarrungsplatte" stellt einen Kupferkasten dar, der mit Paraffinöl gefüllt wird. Gas erhitzt das Oel. Oben auf der bis 85° C erhitzten Kupferplatte stehen die Petrischalen, bis sie erstarren. Den einfachen Apparat liefert F. & M. Lautenschläger.

[3]) Herrichtung des „Wattespatels": Das eine Ende eines dünnen Aluminiumstabes wird in einer Länge von 2 ccm rechtwinklig umgebogen und dieser gezähnte Schenkel mit nicht entfetteter Watte umwickelt.



weise entkeimte Löfflerplatte nochmals bei 35° etwa 8 Stunden lang, damit dann ohne Zeitverlust ihre unberührte Hälfte in der üblichen Weise untersucht werden kann. Die Tellurplatten werden überhaupt nur dann nachgesehen, wenn auf der Löfflerplatte keine Diphtheriebazillen auffindbar waren.

III.

Die Tellurplatte ermöglicht eine grobsinnliche Unterscheidung einzelner Diphtheriekolonien. Bei der Löfflerschen Platte wird in der Regel der Nachweis der Diphtheriekeime durch Farbstoffe mit Hilfe des Mikroskops geführt. Auf der Tellurplatte aber stellt sich ganz von selbst eine intravitale Färbung der Diphtheriekeime ein, die sofort in die Augen fällt: die Diphtheriekolonien erscheinen tiefschwarz. Diese Schwarzfärbung beruht auf einer Reduktion des Tellurdioxyds. Nicht nur die Kolonien des Diphtheriebazillus aber werden schwarz, sondern auch im Protoplasma des einzelnen Diphtheriestäbchens treten ein oder mehrere längliche schwarze Körnchen auf, zu gleicher Zeit und an den nämlichen Stellen, wo die Ernst-Babesschen Körnchen sitzen. Diese metachromatischen Körperchen sind vielleicht die Reduktionsstätten des Bakterienleibes. Genau so wie die M. Neißersche Doppelfärbung nicht nur bei Diphtheriebazillen mikroskopische Körnchen sichtbar macht, so kommt auch durch andersartige Keimarten eine Verfärbung der Tellurplatte zustande. In der Regel sind jedoch derartige Saprophyten von den Diphtheriebazillen durch charakteristische Farbentöne unterscheidbar. So besitzen zum Beispiel die Heubazillen einen braunen, gewisse Kokken einen gelben oder hellbraunen Farbenton (Schwefeltellurbildung), die Soorpilze einen schmalen weißen Schleimsaum, der ihr schwarzes Zentrum umgibt. Die Schar der Pseudodiphtheriebazillen endlich zeigt interessanterweise alle Uebergänge vom Hellgrau bis zum Grauschwarz. Auf jeden Fall macht jenes konstante, grobsinnliche Merkmal, die Schwarzfärbung der Kolonien, ein Uebersehen auch spärlicher Diphtheriekeime völlig unmöglich, vorausgesetzt daß man sehen gelernt hat. Da überdies in jedem Fall die Neißersche Färbung angeschlossen wird, sind Irrtümer so gut wie ausgeschlossen. Einen weiteren Vorteil der Tellurplatte bildet die elektive antiseptische Wirkung des Tellurs. Das Kalium tellurosum 1:5000 schädigt Diphtheriekeime nur wenig, Saprophyten aber stark. Insbesondere werden Kokken, Diplokokken, Sarcine, Streptobazillen, Heubazillen, Proteus- und Hefearten durch diesen Zusatz in ihrer Entwicklung gehemmt. Durch die Einschränkung dieser störenden Begleitbakterien wird der Nachweis der so verwöhnten und hinfälligen Diphtheriekeime wesentlich verschärft. Obendrein läßt sich die Hemmungswirkung des Kalium tellurosum durch eine gewisse Menge von Calcium bimalicum noch verstärken.

IV.

Ein Vergleich der Leistungen von Löffler- und Tellurplatte bringt folgendes Ergebnis: unter 200 Diphtherie-verdächtigen Proben von Rachen- und Nasenabstrichen, die gleichzeitig vergleichsweise auf einer Löffler- sowie auf einer Tellurplatte untersucht wurden, konnte 121 mal Diphtheriebazillen nachgewiesen werden, hiervon 62 mal ausschließlich auf der Tellur-



platte.[1]) Auf der Löfflerplatte waren 59, auf der Tellurplatte 114 Proben positiv. Die Befunde von Diphtheriebazillen haben sich also durch Anwendung der Tellurplatte nahezu verdoppelt. Danach darf behauptet werden, daß durch die Kombination von Löffler- und Tellurplatte die Feststellung der Diphtheriebazillen zwar nicht an Schnelligkeit, aber an Zuverlässigkeit und Sicherheit gewinnt. Diese Tatsache bedeutet einen merklichen Fortschritt für Erkennung und Verhütung, für Therapie und Prophylaxis der Diphtherie.

Diskussion:

Kolle (Bern): Auch bei anderen Bakterienarten, die keine Babes-Ernstschen Körperchen erkennen lassen, sind in flüssigen Nährböden mit Kal. tellur.-Zusatz Ablagerungen von Tellur zu erkennen, die an charakteristischen Stellen liegen, z. B. bei Typhusbazillen, Milzbrandbakterien. Bei Diphtheriebazillen sind die Ablagerungen an den Polen zu erkennen.

Eisenberg (Krakau) meint, daß man mit der Lokalisation von biochemischen Vorgängen in gewissen Gebilden der Bakterienzelle sehr vorsichtig sein sollte, wie an den „sauerstoffübertragenden Körnchen“ von Dietrich und Liebermeister zu ersehen war, die sich als fettartige Einschlüsse erwiesen haben. Es können nämlich anderswo gebildete Körper dank ihren besonderen physikalischen Eigenschaften (Lösungsaffinität oder anderes) an physikalisch dazu prädisponierten Stellen angehäuft werden. Die Bilder, die Prof. Kolle bei Typhusbakterien gesehen hat, scheinen darauf hinzudeuten, daß hier das Tellur im plasmolytisch retrahierten Protoplasten angesammelt ist.

Rosenthal (Göttingen): Ich möchte an den Vortragenden folgende Frage richten: man findet auf den Diphtherieplatten oft Kokken oder Sarcine, die ebenfalls Ernst-Babessche Körperchen enthalten; gedeihen solche Kokken auch auf den Tellurplatten und zeigen sie dann auch Tellurreduktion in diesen Körperchen?

Fornet (Berlin) weist auf die große Bedeutung hin, welche die neue Conradische Methode des Diphtherienachweises für die Lösung epidemiologischer Probleme haben könnte und fragt an, ob Conradi mit seinem Verfahren schon die belebte und unbelebte Umgebung von Diphtheriekranken und mit welchem Erfolge untersucht hat.

E. Jacobsthal (Hamburg): Zur definitiven Beurteilung des Wertes des neuen Tellurverfahrens wird es von großer Bedeutung sein, wie sich durch diese Methode Pseudodiphtheriebazillen von Diphtheriebazillen unterscheiden? Da wohl sicherlich alle Uebergänge zwischen diesen beiden Bakterienarten bestehen, so wird man vermutlich auch hier Uebergänge zwischen schwarzen und grauen Kolonien finden. Interessant wäre es vor allem, ob die degenerierten und wenig virulenten, aber starke Dunkelfärbung bei Neißerscher Färbung gebenden Kolbenformen und Daleschen Formen auf der Tellurplatte nach dem Diphtherie- oder Pseudodiphtherietypus hinneigen. Diese Frage erscheint wegen der Funktion der Babes-Ernstschen Körperchen von prinzipieller Bedeutung.

Gleichzeitig möchte ich hier ein neuerdings von mir angewandtes neues Verfahren zur Züchtung von Diphtheriebazillen aus dem Blute des Lebenden oder der Leiche bekannt geben. Bekanntlich ist dieser Nachweis bisher nur schwer und verhältnismäßig selten, am besten noch Leede, gelungen. Das Prinzip meiner Methode ist das, die Diphtheriebazillen angereichert auf die Oberfläche der Löfflerplatte zu bekommen. Hierzu werden andere körperliche Bestandteile des Blutes, nämlich die Erythrocyten, durch Hämolyse mittels Wassers zerstört. Das Verfahren gestaltet sich so, daß 4—5 ccm Blut in 30—40 ccm sterilen destillierten Wassers, dem ich zuweilen etwas Natr. citricum zugefügt habe, aufgefangen werden; nach sehr scharfem Zentrifugieren wird dann der gesamte nicht ganz geringe Bodensatz mit einem Glasspatel auf 4—5 Löfflerplatten verteilt; nach 48 Stunden, zweckmäßigerweise nicht früher, werden dann alle verdäch-

[1]) In sieben Fällen versagte die Tellurplatte. Durch die vorgeschlagene Zusammenarbeit von Löffler- und Tellurplatte indes wird diese Fehlerquelle ausgeschaltet.



tigen Kolonien abgeimpft und untersucht. Im Leichenblut ist mir in letzter Zeit fast immer der Nachweis von Diphtheriebazillen geglückt (früher seltener, als die Platten nicht lange genug beobachtet wurden), ebenso mehrfach aus dem Lebenden. Sehr bemerkenswert ist nun, daß ich häufig mehrere Typen von Diphtheriebazillen aus demselben Material gezüchtet habe, ferner sind die so gewonnenen Stämme häufig wenig oder gar nicht virulent. Ich lege auf diesen Befund deswegen Gewicht, weil er einerseits die von mir auch sonst vertretene Anschauung von der Umformung des Diphtheriebazillus im Organismus stützt, und andererseits vielleicht zu der eigenartigen Tatsache eine Brücke bildet, daß man aus den Diphtherie-infizierten Meerschweinchen eigentlich nie Diphtheriebazillen züchten kann. Morphologisch sind die mit Wasserzentrifugierverfahren gezüchteten Bakterien häufig pseudodiphtherieähnlich.[1])

A. Dietrich (Charlottenburg): Ich möchte darauf hinweisen, daß von Scheuerlen und Klett die regelmäßige Ablagerung von reduziertem Tellur und Selen in den Bakterienleibern beschrieben ist, auch auf die Uebereinstimmung dieser Stellen mit den Babes-Ernstschen Körnchen hingewiesen ist. Auch andere Ablagerungen finden dort statt z. B. von Neutralrot. Ferner habe ich mit Liebermeister gezeigt, daß auch die Produkte oxydativer Prozesse (Indophenolsynthese) an diesen Stellen erscheinen. So scheint die Rolle der Babes-Ernstschen Körper eine sehr verschiedenartige zu sein.

Conradi (Halle) (Schlußwort): Auf die Anfrage von Herrn Jacobsthal möchte ich erwidern, daß bei virulenten Diphtheriebazillen bisher keine Unterschiede in der Intensität der Schwarzfärbung aufgefunden wurden. Dagegen weisen die Pseudodiphtheriebazillen alle Uebergänge vom hellgrau bis grauschwarz auf. Weitere Untersuchungen hierüber sind im Gange. Herrn Fornet gestatte ich mir zu bemerken, daß wir bereits begonnen haben, in der Umgebung Diphtheriekranker mit dem neuen Verfahren in größerem Maßstabe epidemiologische Untersuchungen durchzuführen. Bei der Kürze der Zeit will ich nur hervorheben, daß es Herrn Stabsarzt Bierast und mir gelungen ist, bei einem gesunden Bazillenträger, einem 8jährigen Jungen, der seit 7 Wochen Diphtheriebazillen in Rachen und Nase aufwies, im Urin Diphtheriebazillen nachzuweisen. Das ist gewiß ein für die Verbreitung der Diphtherie nicht unwesentliches Ergebnis. Herr Kolle hat dann ausgeführt, daß bei allen von ihm untersuchten Bakterienarten Tellurkörnchen auftraten, auch bei solchen Keimarten, die keine Ernst-Babesschen Körperchen aufwiesen. Diese Beobachtung kann ich nur bestätigen, aber nicht zugeben, daß derartige Gebilde nicht unterscheidbar wären von den Diphtheriekörnchen. Denn letztere sind erheblich größer. Der Diphtheriebazillus unterscheidet sich eben von anderen Arten durch die Intensität seiner Reduktionswirkung. Ebenso wie bei der M. Neißerschen Doppelfärbung die Diphtheriekörnchen durch ihre Größe schon vor den Körnchen anderer Keime sich hervortun, so ist auch die Größe des Tellurkorns für den Diphtheriebazillus charakteristisch. Ich glaube, daß durch die Beobachtung des Auftretens dieser Tellurkörner im Leib des Diphtheriebazillus die Vermutung gestützt wird, daß auch die durch die M. Neißersche Doppelfärbung dargestellten Diphtheriekörnchen Reduktionsvorgängen ihre Entstehung verdanken. Jedenfalls zeigen die Diphtheriekörnchen die Stellen im Bakterienleib an, an denen sich die Stoffwechselvorgänge, insbesondere aber die Reduktionen, konzentrieren. Von der Art dieser reduzierenden, intermediären Stoffwechselprodukte und ebenso auch von ihrer Menge hängt das jeweilige Aussehen der Babes-Ernstschen Körperchen bei den einzelnen Bakterienarten ab. Bestimmend ist ferner die Zusammensetzung des Nährbodens. Wie schon M. Neißer hervorgehoben hat, tritt seine Doppelfärbung nicht in Erscheinung, wenn die Diphtheriebazillen in Bouillon gewachsen sind. Der Gehalt dieser Flüssigkeit an Peptonen und Albumosen, die in Blutserum reichlich zur Verfügung stehen, ist hier zu gering. Auf die Anfrage von Herrn Rosenthal möchte ich zum Schluß nur noch bemerken, daß diejenigen Kokken- und Sarcine-Arten, die mit der Neißerschen Doppelfärbung Körnchen ergeben, in der Regel auch Tellurkörner aufweisen.

---

[1]) Anm. bei der Korrektur: Die Kombination meines „Zentrifugierverfahrens" mit dem Conradischen Tellurverfahren hat sich mir ganz neuerdings gut bewährt.



X. Hailer und Ungermann (Gr. Lichterfelde):

Versuche über die Abtötung von Typhusbazillen im infizierten Kaninchen (vorgetragen von Hailer).

Schon auf der letzten Tagung habe ich über Versuche von Rimpau, Ungermann und mir berichtet, durch Zufuhr chemischer Stoffe Typhusbazillen im Organismus des Kaninchens zum Verschwinden zu bringen. Wir wollten dadurch einen Anhalt gewinnen, durch welche Körperklassen und welche chemische Gruppierung sich eventuell bei Typhusträgern ein Aufhören der Keimausscheidung erreichen ließe.

Nun gelingt es nicht, beim Kaninchen durch intravenöse Injektion der Typhusbazillen ein dem menschlichen Dauerausscheider entsprechendes Krankheitsbild hervorzurufen: in Kaninchenfäces konnten wir Typhusbazillen überhaupt nie nachweisen; im Urin auch dann nicht immer, wenn die Nieren keimhaltig waren. Ferner enthält die Gallenblase des mit Typhus infizierten unbehandelten Kaninchens durchaus nicht immer, sondern nur in etwa $^2/_3$ der Fälle Typhusbazillen und der Keimgehalt des Kaninchens geht allmählich zurück, so daß von der fünften Woche ab nicht mehr mit Sicherheit auf das Vorhandensein von Typhusbazillen zu rechnen ist.

Dieser septikämische Verlauf der Typhusinfektion beim Kaninchen hat zur Folge, daß die Feststellung der chemotherapeutischen Wirkung nicht durch Untersuchung der Ausscheidungen erfolgen kann, daß zu ihrem Nachweis vielmehr nur die Sektion anwendbar ist, und daß bei der Therapie mit ziemlich kräftigen Dosen der zu erprobenden Mittel vorgegangen werden muß, um in dieser verhältnismäßig kurzen Zeit eine Wirkung zu erzielen.

Nach Angaben von Scordo, die im Jahr 1911 im Centralblatt für Bakteriologie erschienen, sollten sich Ziegen auf intravenösem und stomachalem Weg mit Typhusbazillen infizieren lassen und die Infektion der Ziege sollte auch in ihrem anatomischen Bild dem menschlichen Typhus ähneln, besonders sollten sich während längerer Zeit in den Se- und Exkreten Typhusbazillen nachweisen lassen.

In der Hoffnung, in der Ziege ein für chemotherapeutische Versuche besser geeignetes Versuchstier zu erhalten, wurden wir aber getäuscht, denn es gelang Ungermann und mir nicht, nach intravenöser und stomachaler Infektion auch nur einmal bei sechs infizierten Ziegen im Kot, Urin oder in der Milch während einer mehrere Wochen währenden Versuchsperiode Typhusbazillen nachzuweisen, ebensowenig auch nach der Sektion in den Organen. Unter diesen Umständen mußten wir das Kaninchen trotz seiner Unvollkommenheiten als Versuchstier beibehalten.

Auf der letzten Tagung hatte ich berichtet über Versuche mit halogensubstituierten Kohlenwasserstoffen (Chloro-, Bromo-, Jodoform) und Aldehyden (Chloral-, Bromal-, Butylchloralhydrat) und über einige Versuche mit einwertigen Phenolen, von denen namentlich meta-Xylenol eine bemerkenswerte Wirkung gezeigt hat. Wir haben diese Versuche weiter fortgesetzt und unter der großen Reihe einwertiger Phenole und Phenoläther, die wir



prüften, waren es namentlich das erwähnte meta-Xylenol und das Thymol, die ohne zu giftig zu sein, in zahlreichen Fällen die Typhusbazillen aus den Organen zum Verschwinden brachten. Viele der untersuchten Verbindungen dieser Gruppe waren wirkungslos — dazu gehörten namentlich die Phenoläther wie Anethol, Phenetol, Carvacrol, Guajakol — andere waren bei beträchtlicher therapeutischer Wirkung zu giftig — wie das Chlor-meta-Kresol, das Tribrom-beta-Naphthol, ferner das Oxychinolin. —

Die beiden erwähnten wirksamen und nicht zu giftigen Verbindungen, das m-Xylenol und das Thymol, gaben wir teils per os in Seifenlösung, teils rektal in einem Milchrahmgemenge gelöst. Die Art der Zufuhr ist in der Wirkung nicht ganz indifferent: vom Mastdarm aus geht die Resorption schneller von statten und die aufgenommenen Stoffe gehen durch den Plexus haemorrhoidalis und die Vena hypogastrica unmittelbar in den Kreislauf über, während bei der Aufnahme von dem Dünndarm aus die Stoffe durch die Pfortader zur Leber gehen, wo sie zum Teil aufgespeichert und chemisch verändert, mit Glukuronsäure, Schwefelsäure gekuppelt, reduziert usw. werden.

Lassen wir die Tiere außer Berechnung, die während der Behandlung an der Infektion oder durch Giftwirkung eingingen, so waren nach Behandlung mit m-Xylenol per os von 19 Tieren 14 in den Organen frei von Typhusbazillen, bei rektaler Zufuhr des Mittels von 8 Tieren 4. Das Thymol hatte, stomachal zugeführt, bei 4 von 11 Tieren die Typhusbazillen zum Verschwinden gebracht, bei weiteren 4 Tieren den Keimgehalt der Organe im Vergleich mit den Kontrollen stark vermindert, während bei 3 Tieren der Erfolg ausblieb; noch etwas günstiger war die Wirkung bei rektaler Einverleibung des Präparats, es waren von 9 Tieren 5 frei von Typhusbazillen und bei zweien war die Infektion sehr vermindert.

Von den zwei- und dreiwertigen, d. h. zwei bzw. drei Hydroxylgruppen am Benzolkern enthaltenden Phenolen waren Brenzkatechin, Resorzin und Hydrochinon wirkungslos, während das Pyrogallol in wässeriger Lösung per os zugeführt in zwei von drei Fällen eine bemerkenswerte Wirkung hatte.

Bei dem Versuche, das in Wasser sehr schwer lösliche Xylenol in einer 15 proz. Natriumsalizylatlösung, in der es besser löslich ist, intravenös zu geben, einem Versuch, den wir wegen des starken Anschwellens der Ohrlappen durch die Injektionen nicht lange fortsetzen konnten, beobachteten wir in einem Falle nach Einverleibung sehr kleiner, kaum wirksamer Mengen Xylenol Freiheit der Organe von Typhusbazillen. Dies legte den Gedanken nahe, daß das salizylsaure Natrium an der Wirkung wesentlich beteiligt sei. In der Tat konnten wir durch intravenöse Zufuhr von 5—8 Tagesdosen von je 0,4 g Salizylsäure in Form ihres Natriumsalzes bei 4 von 7 Tieren Keimfreiheit erzielen, während bei einem weiteren Tier die Rückdrängung der Infektion bemerkenswert, bei 2 Tieren die Behandlung aber ohne Erfolg war. Diese Ergebnisse stimmten überein mit Angaben von Hilgermann, die uns später bekannt wurden. Führten wir das Natriumsalizylat per os aber in wässeriger Lösung selbst in Tagesdosen von 1 g zu, so war nur in einem von vier Fällen Heilung zu beobachten. Bemerkenswert ist dabei, daß Hilgermann bei einer länger fortgesetzten Behandlung von drei Typhusträgerinnen in einem Fall ein Aufhören, in den beiden anderen einen starken Rückgang der Ausscheidung feststellen konnte.

Die günstige Wirkung der Salizylsäure, die ihrer Konstitution nach



ja eine ortho-Oxybenzoesäure ist, veranlaßte uns nun andere aromatische Oxysäuren in größerer Zahl auf ihre chemotherapeutische Wirkung zu untersuchen, d. h. Säuren, die außer der Hydroxylgruppe noch saure Gruppen (Karboxyl- und Sulfogruppen) neben eventuell anderen Substituenten am Benzol- bzw. Naphthalinkern enthalten und die im Vergleich zu den entsprechenden Phenolen weniger giftig sind. Wir prüften so unter anderen die der Salizylsäure isomere para-Oxybenzoesäure, die Azetylsalizylsäure, Phenoxyessigsäure, Phenolsulfosäure, alpha- und beta-Oxynaphthoesäure u. a., aber die Wirkung war eine ziemlich inkonstante und kam der der Salizylsäure in keinem Falle gleich.

Neuerdings haben wir dann unter den Terpenen mehrere wirksame Verbindungen gefunden, die verschiedenen Körperklassen angehören, z. B. das Pinen (einen Kohlenwasserstoff), das Eukalyptol (das Oxyd eines zyklischen Terpens), und das Terpinhydrat, ferner das im übrigen sehr giftige Karvon, das ein zyklisches Keton ist. Von ätherischen Oelen, die vorwiegend aus einem Gemisch von Terpenen bestehen, erwiesen sich namentlich Sandelöl und das giftige Zimmtöl leidlich wirksam, wie wir denn auch schon aus theoretischen Gründen in der Gruppe der Terpene, Kampferarten und ätherischen Oele in erster Linie therapeutisch wirksame Verbindungen zu finden hofften.

Diskussion:

Morgenroth (Berlin) macht auf seine früher mit Rosenthal ausgeführten Versuche aufmerksam, in welchen sich eine, wenn auch geringgradige Wirkung der Oxybenzoesäuren auf die Trypanosomeninfektion ergeben hat.

XI. Morgenroth, J. und Kaufmann, M.:

Zur Chemotherapie der experimentellen Pneumokokkeninfektion.

(Mit Demonstration von Diagrammen.)

Nachdem Morgenroth und R. Levy gefunden hatten, daß die experimentelle Pneumokokkeninfektion der Mäuse durch Aethylhydrocuprein verhindert und auch geheilt werden kann, war die Möglichkeit einer systematischen Untersuchung der zugänglichen Alkaloide der Chininreihe und speziell der Hydrocupreinreihe gegeben, die in der Folge mit Unterstützung der Vereinigten Chininfabriken Zimmer & Co. in Frankfurt a. M. fortgeführt wurde. Morgenroth und Levy hatten bereits festgestellt, daß dem Chinin und dem Hydrochinin in der wässerigen Lösung ihrer Salze keine oder allenfalls eine minimale Wirkung auf die Pneumokokkeninfektion zukommt, während in den zuerst angestellten Versuchen mit wässeriger Lösung eines Aethylhydrocupreinsalzes etwa 25 Proz. der Versuchstiere im prophylaktischen Versuch, im Heilversuch, der 6 Stunden nach der Infektion angestellt wurde, 50 Proz. dauernd überlebten. Daß diese Heilwirkung des Aethylhydrocupreins sich nicht etwa nur auf den in den meisten Versuchen verwendeten, von Prof. Neufeld und Prof. Haendel zur Verfügung gestellten Pneumokokkenstamm bezieht, sondern für eine größere Anzahl von typischen Pneumokokkenstämmen Geltung hat, ist

inzwischen in unserem Laboratorium festgestellt worden; die Versuche werden demnächst von Dr. Gutmann ausführlich veröffentlicht.

Vergleichende Versuche sind neuerdings insofern leichter auf eine breitere und sichere Basis zu stellen, als Morgenroth und Halberstaedter in der Verwendung öliger Lösungen der freien Alkaloidbasen eine Anwendungsform fanden, welche in dem gewöhnlich verwendeten prophylaktischen Versuch mit Sicherheit 80—100 Proz. der Tiere dauernd überleben läßt. Die Lösung der Alkaloidbasen in Oel wird subkutan injiziert. Vom Aethylhydrocuprein genügt die mehrmalige Anwendung von 0,4 ccm einer 2proz. Lösung pro 20 g Maus.

Die nächste Aufgabe war natürlich die, zu untersuchen, ob die prominente Stellung des Aethylhydrocupreins gegenüber seinem nächst niederen Homologon, dem Hydrochinin, und dem Chinin auch dann gewahrt bleibt, wenn die neuen, für eine erfolgreiche Behandlung weit günstigeren Bedingungen eingehalten werden. Wie aus den projizierten Diagrammen zu ersehen ist, kommt dem Chinin in öliger Lösung kaum eine verzögernde Wirkung auf den Ablauf der Pneumokokkeninfektion zu, während in der Parallelreihe mit Aethylhydrocuprein von acht Mäusen (zwei Mäuse sterben an Vergiftung) nur eine einer verspäteten Pneumokokkeninfektion erliegt. Das Hydrochinin rettet gleichfalls kein einziges Versuchstier, dagegen ist in einer Anzahl von Fällen eine geringe Verzögerung im Ablauf der Infektion zu verzeichnen. Von zehn Tieren sterben zwei gleichzeitig mit den Kontrollen, sechs 24 Stunden nach den Kontrollen, je eine Maus überlebt die Kontrollen 2×24 Stunden, resp. 3×24 Stunden.

Es zeigt sich also auch bei dieser Versuchsanordnung, daß von dem Chinin eine Wirkung überhaupt nicht zu erwarten ist. Das Verhältnis von Hydrochinin zu Aethylhydrocuprein bleibt gleichfalls, genau wie im Versuch mit wässerigen Lösungen der Salze gewahrt. Es besteht also hier ein fundamentaler Unterschied zwischen den beiden sonst so nahe stehenden Verbindungen, indem die Wirkung auf die Pneumokokken sprunghaft eintritt, wenn die Methoxygruppe durch die Aethoxygruppe in der Seitenkette des Chinolinanteiles ersetzt wird. Den Trypanosomen gegenüber besteht bekanntlich dieser gewaltige Unterschied nicht, indem, wie aus früheren Versuchen von Morgenroth und Halberstaedter bekannt ist, das Aethylhydrocuprein in wässeriger Lösung dem Hydrochinin zwar überlegen ist, jedoch so, daß man nur von einem graduellen Unterschied in der Wirkung sprechen kann.

Es war nun zunächst von besonderem Interesse, zu untersuchen, wie sich das nächst höhere Homologon des Aethylhydrocupreins, das Propylhydrocuprein verhält. Das Propylhydrocuprein dürfte nach unseren Versuchen um weniges toxischer sein, als das Aethylhydrocuprein, doch möchten wir hier mit der Beurteilung geringer Toxizitätsunterschiede vorsichtig sein, da neuerdings die Giftempfindlichkeit unserer Mäuse sehr großen Schwankungen unterliegt.

Auf alle Fälle ersehen Sie aus den Diagrammen, daß auch dem Prophylhydrocuprein eine erhebliche Wirkung gegenüber der Pneumokokkeninfektion der Mäuse zukommt, wenn sie vielleicht auch etwas weniger sicher ist, als in dem gleichzeitigen Versuch mit Aethylhydrocuprein.

Es zeigt sich also, daß beim Uebergang zu dem höheren Homologon nicht wieder eine radikale Abschwächung der chemotherapeutischen Wirkung



eintritt. Die Untersuchung weiterer Homologen wird ergeben, ob wir in der Aethoxygruppe die optimale Konfiguration zu erblicken haben.

Unter den Verbindungen, welche sich im Trypanosomenversuch dem Chinin überlegen zeigten, befand sich auch das Hydrochlorisochinin, und es lag daher nahe, auch diese Verbindung in ihrer Wirkung auf die Pneumokokkeninfektion zu untersuchen. Hier zeigte sich, daß kaum ein Unterschied gegenüber dem Chinin besteht, daß höchstens in einzelnen Fällen eine ganz minimale Verzögerung im Ablauf der Infektion zu beobachten ist.

Die Versuche von Morgenroth und Levy, in welchen 6 Stunden nach der Infektion erfolgreiche Behandlung durchgeführt wurde, wurden schon früher als Heilversuche im eigentlichen Sinn aufgefaßt, d. h. es wurde angenommen, daß bei Beginn der Behandlung eine ausgebildete Bakteriämie vorhanden sei. Es war uns aber doch darum zu tun, festzustellen, wie sich der bakteriologische Befund des Blutes zur Zeit des therapeutischen Eingriffes verhielt, und wir entnahmen deshalb unmittelbar vorher den Versuchstieren einige Oesen Blut aus den Schwanzgefäßen, die auf Ascites-Agar ausgestrichen wurden. Wir konnten unsere Annahme bestätigt finden, daß zur Zeit des therapeutischen Eingriffs das Blut bereits Pneumokokken in großer Menge enthält, daß es sich also hier, 6 Stunden nach der Infektion mit dem 10—1000 fachen Multiplum der tödlichen Dosis um eine Sterilisation der Blutbahn handelt. Wir legen auf diese Feststellung besonderen Wert, weil dadurch die bereits früher von Morgenroth geäußerte Vermutung an Wahrscheinlichkeit gewinnt, daß es bei der Behandlung der menschlichen Pneumonie gelingt, die in einer großen Anzahl der Fälle (nach Jochmann 75 Proz.) eintretende Bakteriämie zu verhüten oder zu heilen.

XII. Neufeld und Ungermann:

Ueber experimentell erzeugte Pneumonien und ihre Beeinflussung durch Antipneumokokkenserum.

Nachdem die Schutz- und Heilwirkung des Antipneumokokkenserums gegenüber der Pneumokokken-Septikämie der Maus und des Kaninchens festgestellt war, erschien es erwünscht, den Einfluß des Serums auf die Pneumokokkeninfektion der Lunge zu studieren. Eine solche läßt sich durch direkte intrapulmonale Injektion von Pneumokokken bei Meerschweinchen leicht erzielen. Es treten schwere Pleuropneumonien eines oder mehrerer Lappen mit meist sehr großem serös-eiterigem äußerst pneumokokkenreichem Exsudat auf; dieselben entsprechen jedoch mehr einer lobulären, katarrhalischen, als der croupösen Pneumonie des Menschen. Zu therapeutischen Versuchen ist eine sicher in 2—3 Tagen tödliche, aber nicht allzu schwer und rapid verlaufende Infektion zweckmäßig; die Dosierung mußte dabei, je nachdem der Stamm (der sonst nur Mäuse passiert hatte) allmählich für Meerschweinchen an Virulenz gewann, verschieden sein. Bei zu starker Infektion sind die Heilresultate ungünstig.

Die nachstehenden Tabellen zeigen das Ergebnis einiger von unseren Versuchen.



I. Schutzversuch.

Serum 3 Stunden vor der Kultur intravenös.

Infektionsmaterial: Bouillonkultur aus der Maus.

	lebt	tot
I. Infektionsdosis 0,5 ccm		
a) 3,0 ccm Serum	1	2
b) 0,3 „ „	1	2
c) — Kontrollen	0	3
II. Infektionsdosis 0,05 ccm		
a) 3,0 ccm Serum	2	1
b) 0,3 „ „	3	0
c) — Kontrollen	0	3

II. Schutzversuch.

Serum 2 Stunden vor der Kultur intraperitoneal.

Infektionsmaterial: Bouillonkultur (2. Passage durch Meerschweinchen).

Infektionsdosis 0,1 ccm	lebt	tot
a) 0,3 ccm Serum	3	0
b) 0,1 „ „	3	0
c) — Kontrollen	0	3

III. Schutzversuch; Titerbestimmung.

Serum 3 Stunden vor der Infektion intravenös.

Infektionsmaterial: Bouillonkultur (6. Passage durch Meerschweinchen).

Infektionsdosis 0,005 ccm	lebt	tot
a) 0,3 ccm Serum	3	1
b) 0,03 „ „	3	1
c) 0,003 „ „	0	4
d) — Kontrollen	0	1

IV. Heilversuch.

Serum 2 Stunden nach der Infektion intravenös.

Infektionsmaterial: Bouillonkultur aus der Maus.

Infektionsdosis 0,1 ccm	lebt	tot
a) 0,3 ccm Serum	2	3
b) — Kontrollen	0	3

V. Heilversuch.

Serum 3 Stunden nach der Infektion intravenös.

Infektionsmaterial: Pleuraexsudat (3. Passage der Pneumokokken durch Meerschweinchen).

	lebt	tot
I. Infektionsdosis 0,05 ccm Exsudat		
a) 0,3 ccm Serum	2	1
b) — Kontrollen	0	2
II. Infektionsdosis 0,001 ccm Exsudat		
a) 0,3 ccm Serum	3	0
b) — Kontrollen	0	2

VI. Heilversuch.

Serum 2 Stunden nach der Infektion intravenös und intraperitoneal.

Infektionsmaterial: Bouillonkultur (1. Passage durch Meerschweinchen).

	lebt	tot
I. Infektionsdosis 0,1 ccm		
a) 0,3 ccm Serum intravenös	4	1
b) 0,3 „ „ intraperitoneal	2	1
c) — Kontrollen	0	2
II. Infektionsdosis 0,002 ccm		
a) 0,3 ccm Serum intravenös	5	0
b) 0,3 „ „ intraperitoneal	3	0
c) — Kontrollen	1	2



Aus den Versuchen geht hervor, daß 0,03—0,3 ccm eines hochwertigen Serum (Heilserum aus dem Sächsischen Serumwerk in Dresden) einen guten Schutzeffekt hatten, während 0,003 nicht mehr wirkte. 0,3 Serum bewirkte, 3 Stunden nach der Infektion intravenös oder intraperitoneal gegeben, in der Mehrzahl der Fälle völlige Heilung. Es entspricht das im Verhältnis zum Körpergewicht der Versuchstiere etwa einer Verdünnung des Serums 1:1000.

Auch bei Heilversuchen am Menschen wird es sich wohl empfehlen, etwa bis zu entsprechenden Serummengen aufzusteigen (50—100 ccm). Ueber die Berechtigung der Berechnung der wirksamen Dosen nach dem Körpergewicht vgl. den nachfolgenden Vortrag von Ungermann „Ueber quantitative Verhältnisse bei der Antikörperwirkung“.

Der Ausdruck „Heilversuch“ ist für alle Versuche üblich, wo das Serum nach der Infektion bzw. nach der Vergiftung gegeben wird. Wie es sich aber bei den Antitoxinversuchen zum größten Teil wohl nur darum handelt, die weitere Bindung von Toxin an die giftempfindlichen Zellen zu verhindern und nur zum kleineren Teil darum, das schon gebundene Toxin den Zellen wieder zu entreißen, so wird wohl auch bei Heilversuchen mit antiinfektiösen Seris vor allem die Entstehung neuer Krankheitsherde verhütet werden; inwieweit schon bestehende Herde, in unserem Fall also pneumonische Herde der Lungen, unmittelbar durch das Serum zur Heilung gebracht werden, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Auch bei Heilversuchen am Menschen haben wir die Hauptaufgabe des Serums vielleicht darin zu suchen, daß die weitere Ausbreitung der Infektion in den Lungen verhindert und die septikämische Blutinfektion, die uns von der größten Bedeutung für den Ausgang der Krankheit zu sein scheint, bekämpft wird.

---

2. Tag. 31. Mai 1912 vormittags.

Vorsitzender: Tjaden (Bremen).

I. Mießner (Hannover):

Ueber Tollwutschutzimpfung bei Tieren.[1])

Im folgenden soll über Versuche kurz berichtet werden, welche ich im Laufe des vergangenen Winters in Gemeinschaft mit meinen Assistenten Dr. Kliem und Dr. Kapfberger ausgeführt habe. Es handelte sich darum ein für größere Wiederkäuer und Pferde geeignetes Impfverfahren gegen Tollwut zu ermitteln, um die Landwirtschaft insbesondere der östlichen Provinzen vor den Schäden zu bewahren, welche häufig durch Tollwuterkrankungen wertvoller Bestände veranlaßt wurden.

1. Aktive Immunisierung. Es ist selbstverständlich, daß wir uns das in der Humanmedizin gewonnene große Erfahrungsmaterial dabei zu nutze machten unter Berücksichtigung der in der Veterinärmedizin not-

[1]) Die Versuche sollen demnächst ausführlich veröffentlicht werden.



wendigen Modifikationen. Wollte man den praktischen Verhältnissen der Landwirtschaft Rechnung tragen, so war zu beachten, daß a) die Zahl der Impfungen nur eine geringe sein durfte, b) der Impfstoff leicht herstellbar, transportabel und injektionsfähig war.

Die Zahl der Impfungen suchten wir ohne Verminderung des Impfschutzes dadurch einzuschränken, daß wir nur frisches virulentes Rückenmark verwendeten und eine größere Menge desselben teils intravenös, teils intraabdominal infizierten. Schon diesbezügliche Untersuchungen beim Menschen haben ergeben, daß die subkutane Injektion frisch entnommenen Rückenmarks von tollwutkranken Kaninchen gut vertragen wird und das gleiche konnten wir auch bei den Haustieren (Hund, Schaf, Ziege, Rind, Pferd) beobachten.

Eine größere Zahl von Vorversuchen wurde zunächst an Kaninchen ausgeführt, welche indessen wahrscheinlich infolge der hohen Empfänglichkeit der Kaninchen für Tollwut meist ungünstig ausfielen, weshalb wir bald zu den Experimenten an Hunden und Wiederkäuern übergingen. Es erhielten in einer ersten Versuchsreihe mehrere Hunde, Schafe und Kälber in Zwischenräumen von 1—2 Tagen 1 g bzw. 2 g, bzw. 3 g frisches Virus fixe teils intravenös teils intraabdominal appliziert. Der Impfstoff bestand aus frischem Rückenmark bzw. Gehirn von Kaninchen, die nach einer Virus fixe-Infection in 9—11 Tagen eingegangen waren. Die angegebene Menge wurde abgewogen, im Mörser fein zerrieben und mit physiologischer Kochsalzlösung angerichtet. Nach Zentrifugieren wurde die überstehende Flüssigkeit nochmals filtriert und dann injiziert. Nach der 3. Injektion, in einzelnen Fällen auch schon zwischen der 2. und 3. Injektion erhielten dann alle Impflinge mit Ausnahme von 1 Hunde, Schafe und Kalbe, die als Kontrollen blieben, subdural frisches Virus fixe gleichzeitig mit je einem nicht vorbehandelten Kontrolltier. Es sei hierbei bemerkt, daß wir absichtlich davon Abstand nahmen, die Kontrollinfektion erst 12—20 Tage nach der Vorbehandlung folgen zu lassen, weil es als erwiesen gelten kann, daß innerhalb dieser Zeit eine aktive Immunität entsteht. Zweck dieser Versuche soll vielmehr sein, nachzuweisen, ob genügend Antikörper schon früher entstünden bei forzierter Impfung, weshalb wir die Infektion möglichst nahe mit der Immunisierung zusammenlegten und auf diese Weise den praktischen Verhältnissen am nächsten kämen. Der Erfolg dieses ersten Immunisierungsversuchs war leider wenig ermutigend. Alle infizierten Tiere starben, wobei sich irgend ein wesentlicher Unterschied zwischen den vorbehandelten und unvorbehandelten Tieren nicht ergab. Nur die nicht infizierten Impflinge blieben gesund.

Wir gingen nun von der Annahme aus, daß vielleicht der subdurale Infektionsmodus zu stark gewählt sei, zumal er auch den Verhältnissen, unter welchen eine natürliche Tollwut entstand, am wenigsten entsprach. Deshalb wurde in einer 2. Versuchsreihe die intramuskuläre Applikation gewählt und ferner nicht virus fixe, sondern Straßenvirus als Infektionsmaterial gewählt, nachdem wir uns vorher überzeugt hatten, daß in der angegebenen Weise Hunde und Schafe wirksam mit Tollwut zu infizieren sind.

Die Vorbehandlung geschah ähnlich wie vorher, nur daß die Injektionen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen erfolgten und statt 1, 2, 3 g 2, 3, 4 g verwendet wurden. Am letzten Impftage erfolgte die intramuskuläre Infektion sämtlicher Impflinge (3 Hunde, 3 Schafe, 3 Kälber), dreier nicht vorbehandelter Kontrollen und der aus der ersten Versuchsreihe noch übrig gebliebenen Impfkontrollen, welche die Vorbehandlung gut vertragen hatten und in



den folgenden 2 Monaten nicht erkrankt waren. Leider verendete ein geimpfter Hund und ein geimpftes Kalb 8 bzw. 11 Tage nach der intramuskulären Infektion an Lyssa. Der frühzeitige Tod dieser beiden Tiere dürfte nicht recht erklärlich sein; es erscheint nicht ausgeschlossen, daß diese beiden Tiere vielleicht die intravenöse Impfung nicht vertragen hatten. Alle übrigen Tiere blieben die nächsten 3 Monate (soweit reicht die Beobachtungszeit zurzeit der 1. Korrektur) gesund mit Ausnahme eines unbehandelten Kontrollhundes, bzw. Kontrollkalbes, die nach 9 bzw. 7 Wochen an typischer Lyssa eingingen. Außerdem wurden 6 Wochen nach Beendigung des ersten Versuchs ein Hund und ein Schaf zum zweiten Male intraokulär mit Straßenvirus infiziert, gleichzeitig mit 2 Kaninchen, die beide 11 bzw. 15 Tage nach der Infektion an Tollwut verendeten. Läßt sich auch aus den vorstehenden Versuchen ein Schluß über die Wirksamkeit der Impfung noch nicht ziehen, weil zum Teil die Zeit seit Beginn der Versuche auch noch zu kurz ist, so gewinnt man doch den Eindruck, daß in der angegebenen Weise eine Immunisierung gelingt. Ob dieselbe aber auch postinfektionell kräftig genug ist, um ein bereits infiziertes Tier zu schützen, erscheint fraglich und müßte erst durch besondere Versuche festgestellt werden.

Sollte die Impfung wirklich praktisch durchführbar sein, so mußte in zweiter Linie stets eine größere Menge leicht transportablen Impfstoffes vorrätig gehalten werden, da plötzlich sich die Notwendigkeit ergeben konnte, einen größeren Bestand von Pferden oder Rindern zu impfen. Es war daher nicht möglich, wie beim Menschen den Impfstoff im lebenden Kaninchen vorrätig zu halten, dann müßten wir täglich eine große Menge von tollwutkranken Kaninchen bereit halten, von denen wahrscheinlich nur der kleinste Teil Verwendung finden würde. Deshalb mußten wir geeignete Konservierungsmethoden ausprüfen, durch welche die Virulenz des Rückenmarks möglichst wenig beeinträchtigt wurde. Wir machten zunächst von der üblichen Aufbewahrung in Glyzerin Gebrauch, die aber den Nachteil hatte, daß die intravenöse Injektion solchen nicht genügend vom Glyzerin befreiten Materials von den Tieren schlecht vertragen wurde.

Wir konservierten dann das steril entnommene Rückenmark in steril zugeschmolzenen Reagensröhrchen, teils innerhalb Gelatine, teils ohne dieselbe. Es erwies sich hierbei das Rückenmark noch nach 5monatlicher Aufbewahrung virulent.

Alle angegebenen Methoden hatten aber den Nachteil, daß man nur das Rückenmark verwenden konnte, da es schwer oder garnicht gelang, auch das Gehirn steril zu entnehmen. Bei der großen Menge des erforderlichen Impfmaterials wäre aber auch die Konservierung des Gehirns nicht unwesentlich. Deshalb versuchte ich die Eintrocknung des Gehirnes im Heim-Faustschen Schnellabdampfapparat bei einer Temperatur von 30° Gehirn und Rückenmark wurden unter sterilen Kautelen im Mörser sehr fein zerrieben, mit nicht allzuviel physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und auf großen Emailleschalen in etwa ½ cm hoher Schicht in den Schnellabdampfapparat gestellt. Meist gelang es schon nach 24 Stunden, eine trockene Masse vom Boden der Schalen abzukratzen, die im Mörser zu Pulver zerrieben und in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrt wurde. Im Gebrauchsfalle läßt sich die erforderliche Menge leicht abwägen und mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben injizieren. Sollte dieses Trockenpräparat wirksam sein, so mußte es natürlich seine Virulenz bewahren, was nach den Austrocknungsversuchen mit Kalium causticum zunächst zweifelhaft erschien. Wunder-



barerweise wird aber das Virus bei der von mir angegebenen Art der Austrocknung nicht so sehr geschädigt. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen hatte es noch seine volle Virulenz und es gelang uns bis jetzt mit einem solchen sogar 7 Wochen lang aufbewahrten Präparat Kaninchen subdural zu infizieren. Allerdings nahm im Laufe der längeren Aufbewahrung auch die Virulenz etwas ab, so daß die Versuchstiere erst nach einer verlängerten Inkubation erkrankten. Dieser Mangel ließe sich vielleicht durch Verwendung größerer Mengen bei längerer Aufbewahrung der Präparate ausgleichen. Jedenfalls hat diese Art der Konservierung vor allen übrigen den Vorzug, daß man das Gehirn verwenden und das Präparat leicht dosieren, transportieren und injektionsfertig machen kann. Für das Präparat schlage ich den Namen Lyssin vor.

2. Passive Immunisierung. In zweiter Linie wurden passive Immunisierungen und endlich Lumillenimpfungen ausgeführt. Zur Gewinnung des Antiserums wurden Pferde, Rinder, Schafe und Ziegen mit steigenden Mengen frischer virus fixe in Zwischenräumen von 8 Tagen teils intravenös teils intraabdominal vorbehandelt. Durch die Einverleibung dieses Serums an bis zu 20mal vorbehandelten Tieren ist bis jetzt ein wirksames Serum nicht erzielt worden. Daß in der Tat Antikörper in den Seren vorhanden waren, konnte dadurch nachgewiesen werden, daß ein in vitro hergestelltes Gemisch von 0,01 bis 0,1 virus fixe mit 1—2 ccm Serum subdural bei Kaninchen keine Tollwut erzeugten. Nach dem Vorgange von Marie wurden solche Virusserummelangen zur intravenösen Immunisierung benutzt, aber ohne Erfolg. Ich stimme hierin mit Kraus überein, welcher den Virusserummelangen wohl eine rabizide Kraft, aber keine immunisatorische Eigenschaft zuspricht.

3. Salvarsanversuche. Schafe, Kaninchen und Hunde wurden in verschiedenster Weise mit Salvarsan behandelt, das wir der Liebenswürdigkeit von Exzellenz Ehrlich verdanken. Die Tiere erhielten stets 0,04 g Salvarsan pro kg und zwar in der von mir bereits früher angegebenen Konzentration von 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 10 g Normalnatronlauge auf 1 g Salvarsan. Die nicht infizierten Kontrolltiere vertrugen die intravenöse Salvarsanapplikation stets gut. Das Salvarsan wurde teils prä- teils postinfektionell ein- bzw. zweimal gegeben, ohne daß es gelang, die Tollwuterkrankungen zu verhindern oder auch nur zu verzögern. Es muß also dem Salvarsan jede spezifische Beeinflussung der Tollwut abgesprochen werden.

Gelegentlich dieser Tollwutversuche wurde noch eine Anzahl von Beobachtungen gemacht, auf die in einer speziellen Arbeit näher eingegangen wird, die hier aber nur kurz Erwähnung finden sollen. So ließen sich die biologischen Methoden zur Diagnose der Tollwut bisher nicht verwerten, Das Kammerwasser von Virus fixe-Kaninchen erwies sich stets dann virulent, wenn die Tiere auf der Höhe der Erkrankung waren und Lähmungserscheinungen zeigten. In einem Fall gelang es auch mit dem Gehirn eines Schaffötus, der von einer tollwutkranken Mutter stammte, Kaninchen mit Tollwut zu infizieren.

Diskussion:

J. Koch (Berlin): Anläßlich eines Falles, wo es galt, wertvolle Hunde, die mit tollwutkranken Tieren in Berührung gekommen waren, zu retten, sind wir auch der Frage der prophylaktischen Immunisierung gegen Tollwut näher getreten. Derartige Versuche sind



ja bereits von verschiedenen Forschern, sowohl bei Hunden, als auch bei größeren Haustieren unternommen. Ich erinnere an die Versuche von Pasteur, v. Frisch, Högyes u. a. Leider haben alle diese Versuche ein vollkommen befriedigendes Resultat nicht gezeitigt und praktische Bedeutung nicht gewonnen. Wir haben zurzeit noch keine sichere Methode, mit der es gelingt, Hunde und andere Haustiere gegen eine spätere Infektion sicher zu schützen.

Herr Dr. Pokschischewsky hat auf meine Anregung die Frage der prophylaktischen Immunisierung in jüngster Zeit von neuem wieder aufgenommen. Wir können über folgende Versuche berichten.

Zunächst wurden 5 Hunde nach der alten Pasteurschen Methode behandelt. Wir begannen mit 14 Tage getrocknetem Mark und gingen herunter bis zu 3 tägigem Mark. Davon erhielten die Hunde täglich 2 ccm Emulsion (1 ccm getrocknetes Mark zu 10 ccm Kochsalz) subkutan eingespritzt. Die Dauer der Behandlung betrug 28 Tage. Ein Monat nach Abschluß der Behandlung erfolgte die Infektion mit Straßenvirus und zwar wurden 2 Hunde subdural und 3 intramuskulär (dazu ein Hund als Kontrolle) infiziert. Sämtliche Hunde gingen an typischer Straßenwut zugrunde, bei sämtlichen konnte die Diagnose „Wut“ durch den Nachweis der Negrischen Körperchen im Ammonshorn sichergestellt werden.

Ein zweiter Versuch wurde in der Weise angestellt, daß 5 Hunde intraperitoneal zu immunisieren versucht wurden. Dreimal in einem 8 tägigen Zwischenraum erhielten die Tiere frisches Virus fixe und zwar jedesmal den 5. Teil des Gehirnes eines Passagewutkaninchens. Von diesen Tieren nebst einer Kontrolle (davon wurden 2 subdural, 3 intramuskulär und die Kontrolle ebenfalls intramuskulär mit Straßenwut infiziert) erwiesen sich 4 Tiere als immun und zwar 1 subdural und 3 intramuskulär infizierte. Die Kontrolle ging nach 10 Tagen ein.

Ein dritter Versuch verlief in folgender Weise: 5 Hunde (mit einer Kontrolle) wurden in derselben Weise wie die vorhergehenden intraperitoneal zu immunisieren versucht. Die 2 subdural später mit Straßenwut infizierten Tiere gingen zugrunde, während 3 intramuskulär gleichzeitig infizierte bis jetzt ca. 5 Monate später noch am Leben sich befinden. Die intramuskulär infizierte Kontrolle ging nach 12 Tagen ein.

Ein vierter Versuch an 5 Hunden wurde wiederum nach der alten Pasteurschen Methode angestellt mit dem Resultat, daß sämtliche Tiere einer späteren Straßenwutinfektion erlegen sind.

Die besten Resultate haben wir demnach mit der intraperitonealen Methode und Applikation von großen Dosen frischen Passagevirus erhalten, während die Pasteursche Methode in unseren Versuchen versagte.

Bei der Beurteilung der Immunität der Hunde gegen eine postinfektionelle Infektion ist große Vorsicht geboten. Vor allem darf die verschiedene Virulenz des Straßenwutvirus nicht außer acht gelassen werden. Es kommt vor, daß die Hunde bei Infektion mit dem einen Straßenwutvirus sich refraktär erweisen, während ein anderes Virus die Tiere in der typischen Weise tötet. Unbedingt erforderlich ist auch die Hunde längere Zeit zu beobachten, da sie zuweilen nach langer Inkubationszeit an Wut sterben. Auch abortiv verlaufende Formen kommen zuweilen vor, worauf ich in früheren Publikationen bereits hingewiesen habe. Jedenfalls lassen sich nur aus großen Versuchsreihen einigermaßen sichere Schlüsse ziehen.

Schnürer (Wien): In Versuchen, die ich bereits vor 8 Jahren begann und die dann Greiner und Kirschik festsetzten, gelang es bei ca. 40 Hunden nach einmaliger subkutaner Injektion von 1—3 g frischen Virus fixe mit großer Sicherheit Immunität gegen subdurale Infektion mit Virus fixe und verschiedenem Straßenwutvirus zu erzielen. Die Mißerfolge Kochs können ohne weiteres nicht erklärt werden; überdies haben auch die ersten Nachuntersuchungen der klassischen Pasteurschen Methode negative Resultate ergaben, weil zu kleine Kaninchen verwendet wurden, deren Mark zu rasch austrocknete und dadurch avirulent wurde. Diese Tatsache spricht auch gegen die Wirksamkeit des von Mießner durch Trocknen des Wutmarkes hergestellten Impfstoffes. Versuche über Wutimmunisierung bei Wiederkäuern haben nur biologisches Interesse, eine wirksame Bekämpfung der Seuche ist nur bei fakultiver präinfektioneller Immunisierung der Hunde denkbar.

J. Koch (Berlin): Die Resultate des Herrn Schnürer sind außergewöhnlich gute. Ein bestimmtes Urteil darüber läßt sich nur nach genauer Kenntnis der Versuche abgeben. Die Immunisierung von Kaninchen gegen Tollwut ist noch schwieriger, wie die der Hunde. Auch hier haben wir mit der intraperitonealen Methode noch die besten Resultate erzielt.



Die intravenöse und subkutane Einspritzung von frischem Virus fixe führt in einer Reihe von Fällen zum Tode des Tieres an Tollwut.

Mießner (Hannover): Meine Versuche hatten in erster Linie den Zweck, einen strikten Beweis zu führen, ob es gelingt, bei Wiederkäuern und Pferden eine prä- und postinfektionelle Immunität zu erzeugen und im bejahenden Falle ein diesbezügliches praktisches Immunisierungsverfahren zu ermitteln. Sollte dies nicht gelingen, so bleibt immer noch übrig prophylaktisch alle Hunde an der Grenze zu impfen und ich zweifle nach dem Ausfall unserer Versuche und den Mitteilungen Schnürers nicht, daß dies sicher gelingen wird. Auch hierbei wird sich mein Impfstoff Lyssin, der selbstredend nur so lange verwendet werden darf, wie er virulent ist, sehr nützlich erweisen. Aehnliche erfolglose Versuche an Kaninchen, wie Koch angibt, lassen sich mit den Ergebnissen an größeren Haustieren nicht vergleichen. Auch wir hatten znächst unsere Versuche an Kaninchen begonnen und eine große Zahl von Tieren geopfert. Dabei mußten wir uns davon überzeugen, daß das Kaninchen wegen seiner hohen Empfänglichkeit für Tollwut zu Immunisierungsversuchen überhaupt nicht brauchbar ist. Deshalb gingen wir nach den vollständig erfolglosen Versuchen an Kaninchen zu Hunden, Schafen und Kälbern über. Gegenüber den Bemerkungen von Herrn Kraus sei erwähnt, daß wir stets quanitativ arbeiteten und von dem Gewicht des verwendeten Gehirns bzw. Rückenmarks ausgingen.

II. Haendel und Gildemeister (Groß-Lichterfelde):
Ueber die Beziehungen des Bazillus Voldagsen zur Schweinepest.
(Vorgetragen von Gildemeister.)

Auf der Tagung des vorigen Jahres haben wir über bakteriologische Befunde berichtet, welche von uns anläßlich der im Kaiserlichen Gesundheitsamte unter Leitung von Herrn Geheimrat Uhlenhuth durchgeführten Arbeiten über Schweinepest erhoben worden waren.

Wir hatten dabei darauf hingewiesen, daß verschiedene Stämme des *Bacillus suipestifer* Voldagsen, welche uns in liebenswürdiger Weise von Herrn Geheimrat Dammann überlassen worden waren, bei der Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden in ihrem kulturellen und serologischen Verhalten auffallende Veränderungen gezeigt hatten. Die betreffenden Kulturen waren nämlich nach ihrer Isolierung aus dem Tierkörper zunächst auf den Differentialnährboden wie der Gläßersche *Bacillus typhi suis*, also typhusähnlich, gewachsen und in Uebereinstimmung mit ihrem kulturellen Verhalten nur von dem eigenen und Bazillus Gläßer-Serum agglutiniert worden. Bei der Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden hatten dann diese Stämme insofern Abweichungen in ihren kulturellen Eigenschaften gezeigt, als sie nicht nur wie der Gläßersche Bazillus in Traubenzuckerbouillon bald Gas bildeten, bald nicht, sondern auch in allmählich zunehmendem Grade in Neutralrotagar Aufhellungen und Gasbildung bewirkten. Hand in Hand mit dieser Aenderung der kulturellen Eigenschaften änderte sich auch das serologische Verhalten, indem die Stämme von Pestifer und Paratyphus B-Serum in zunehmender Weise beeinflußt wurden. Die mit solchen Kulturen hergestellten Sera agglutinierten auch entsprechend Pestifer- und in geringem Grade Paratyphusstämme.

Wir konnten ferner mitteilen, daß wir bei den bakteriologischen Untersuchungen der im Gesundheitsamt an Schweinepest eingegangenen oder notgeschlachteten Schweine eine Anzahl von Stämmen gefunden hatten, welche sich kulturell vollkommen wie Paratyphus B verhielten, aber weder



von Paratyphus B noch Gärtnerserum, wohl aber auffallender Weise außer durch das eigene auch durch Sera agglutiniert wurden, welche mit den ein ganz anderes kulturelles Verhalten zeigenden Gläßer- und Voldagsen-Stämmen hergestellt waren. Ein mit diesen Paratyphus B-gleichen, aber für Paratyphus B-Serum inagglutinablen Stämmen hergestelltes Serum agglutinierte außer den homologen Kulturen auch Gläßer- und Voldagsen- sowie Pestiferstämme, dagegen nicht Paratyphus B und Gärtnerbazillen. Wir hatten sonach hier, und zwar in verschiedenen Fällen, die bemerkenswerte Erscheinung, daß bezüglich ihres kulturellen Verhaltens einander fern stehende und beträchtliche Differenzen zeigende Bakterienarten enge serologische Beziehungen aufwiesen. Besonders bemerkenswert war es dabei, daß die Voldagsen- und Gläßer-Sera die aus Schweinen isolierten Pestiferstämme im allgemeinen ziemlich hoch, zum großen Teil selbst bis zur Titergrenze agglutinierten, die von Menschen stammenden Paratyphus B-Stämme aber weniger stark, zum Teil überhaupt nicht nennenswert beeinflußten. Ein entsprechendes Verhalten zeigte, wie erwähnt, das mit Paratyphus B-gleichen, aber für Paratyphus B inagglutinablen Bakterien hergestellte Serum. Dieses verschiedene Verhalten der zur Paratyphus-Gruppe gehörenden Pestifer- und Paratyphus B-Stämme diesen heterologen Seris gegenüber ist bei einer größeren Anzahl von Kulturen von Teodorascu eingehend untersucht worden, welcher darüber noch besonders berichtet. Hier möchten wir nur kurz die weiteren Beobachtungen erwähnen, welche wir bezüglich des ferneren Verhaltens der ursprünglich für Paratyphus B- und Gärtnerserum unempfindlichen Paratyphus B- gleichen, sowie bezüglich der Voldagsen-Stämme gemacht haben. Die ersten Kulturen zeigten zunächst während einer Beobachtungsdauer von etwa $^3/_4$ Jahren weder in ihrem kulturellen noch in ihrem serologischen Verhalten irgend welche Aenderung. Erst Anfang dieses Jahres konnten wir zum ersten Male bei einzelnen dieser Stämme eine wenn auch nur wenig ausgesprochene Beeinflussung durch Pestifer- und Paratyphus B-Sera feststellen, die bei einigen Kulturen ebenfalls allmählich zunahm, so daß diese jetzt durch Pestifersera bis zur Hälfte, durch Paratyphussera bis etwa zu einem Drittel des Serumtiters agglutiniert wurden, während dagegen auf einzelne andere von diesen Stämmen auch noch heute diese Sera keinen nennenswerten Einfluß ausüben. Was das weitere Verhalten der Voldagsen-Kulturen anlangt, so konnten wir bei unseren Laboratoriumsstämmen außer dem labilen Verhalten in Neutralrotagar und Traubenzuckerbouillon eine weitere Schwankung der kulturellen Eigenschaften beobachten, indem die Stämme in Lackmusmolke nicht immer ein typhusähnliches Wachstum zeigen, sondern häufig auch eine Rötung dieses Nährbodens, aber ohne deutlichere Trübung bewirken. Im Laufe des Jahres konnten wir dann bei einem Seuchengange in der Provinz Posen selbst einige Voldagsenstämme aus Schweinen isolieren und auch bei diesen ganz entsprechende Verhältnisse feststellen. Es ergab sich dabei, daß auch ganz frisch aus dem Tierkörper gezüchtete Voldagsenkulturen bereits von Pestifer- und Paratyphus-Seris agglutiniert werden können. Man ist dann nicht imstande, mit der Agglutination allein die Kulturen zu erkennen und zu entscheiden, ob man einen Pestifer- oder Voldagsenstamm vor sich hat. Erst die genaue kulturelle Prüfung bringt die erforderliche Klarheit. Besonders geeignet für Differenzierung innerhalb kurzer Zeit ist die Hetschsche Lösung, welche die Voldagsen- und Gläßer-Stämme unverändert lassen, während die Pestifer- und Paratyphus B-Stämme auf diesem Nähr-



boden bekanntlich Rötung, Ausfällung und Gasbildung bewirken. Wir haben nun die uns durch diesen Seuchengang gebotene Gelegenheit zugleich benutzt und einige Untersuchungen über die Bedeutung des Bazillus Voldagsen als Seuchenerreger angestellt, ob er in der Tat entsprechend der Annahme von Dammann als Erreger einer besonderen bazillären Form der Schweinepest anzusehen ist, oder ob ihm nicht gemäß der Auffassung Uhlenhuths eine mehr sekundäre Rolle in ähnlicher Weise wie dem Pestifer und dem Gläßer-Bazillus bei der durch das filtrierbare Virus verursachten Schweinepest zukommt.

Bei diesen Versuchen konnten wir zunächst die Angaben Dammanns und Stedefeders in der Hinsicht bestätigen, daß der Voldagsen-Bazillus für Schweine bei künstlicher Infektion pathogen ist. Es gelingt ohne Schwierigkeit, Ferkel durch Fütterung mit diesem Bazillus zu infizieren, vorausgesetzt allerdings, daß es sich um recht junge Tiere handelt. Bei über 14 Wochen alten Ferkeln gelingt die experimentelle Infektion nicht mehr sicher, auch bei Anwendung großer Kulturmengen. Wir haben an einzelne derartige Tiere bis zu 5 Kulturen auf einmal und in mehrmaligen Gaben bis zu 45 Kulturen und mehr ohne Erfolg verfüttert. Aus diesem Grunde ist es uns nur in einem Falle gelungen, ein gegen das filtrierbare Virus immunes junges Tier tödlich zu infizieren, weil die Schweine, wenn sie auch zu dem Versuch mit filtrierbarem Virus als ganz junge Tiere verwandt worden waren, in der Regel nach Abschluß des Versuches doch schon zu alt sind, um noch erfolgreich mit Voldagsen infiziert werden zu können. Auch Dammann und Stedefeder haben bereits hervorgehoben, daß nur junge Schweine bis zum Alter von 3—4 Monaten für die Voldagsen-Infektion empfänglich sind. Die Tatsache, daß auch experimentell nur verhältnismäßig junge Tiere mit dem Bazillus Voldagsen infiziert werden können, spricht unseres Erachtens in gewisser Hinsicht bereits dafür, daß der Bazillus Voldagsen nicht gut eine Rolle als Erreger einer besonderen Seuche ähnlich der Schweinepest spielen kann. Wenn aber die Uhlenhuthsche Annahme zu Recht bestand, so mußte es einmal gelingen, in dem erwähnten Seuchengang das filtrierbare Virus nachzuweisen und zweitens mußte sich auch experimentell der Nachweis erbringen lassen, daß in einem Seuchenstall, in welchem viruskranke, sowie experimentell mit Voldagsen infizierte Tiere mit gegen das Virus durch Serum geschützten Ferkeln und mit unbehandelten Ferkeln zusammengebracht wurden, eine spontane Voldagsen-Infektion nur bei den Tieren erfolgt, welche nicht gegen das filtrierbare Virus geschützt sind, während die unter Serumschutz stehenden Tiere auch von der bazillären Erkrankung verschont bleiben.

Wir haben uns zu diesem Zwecke einen besonderen Seuchenstall eingerichtet, in welchem am 29. März bzw. am 1. April dieses Jahres je 2 mit Virus bzw. mit Voldagsen infizierte Ferkel sowie je 2 unbehandelte mit Serum gegen das filtrierbare Virus geimpfte Ferkel gesetzt wurden. Die benutzten Tiere waren ca. 8 Wochen alt. Der Versuch wurde nicht in unserem alten Seuchestall vorgenommen, weil in demselben seit mehreren Jahren ständig pestkranke Schweine gehalten worden waren und infolgedessen in ihm alle möglichen Bakterien ausgestreut sind, welche auf den Versuch einen störenden Einfluß hätten ausüben können. Auch wollten wir einen bezüglich des filtrierbaren Virus nicht zu virulenten Seuchenstall haben, damit die Tiere mehr chronisch an der filtrierbaren Form der Schweinepest erkrankten und so bessere Gelegenheit geboten war, daß der Bazillus Voldagsen von

den nicht experimentell mit ihm infizierten Tieren aufgenommen werden konnte. Aus diesem Grunde hatten wir auch zunächst ein uns als besonders schwach bekanntes Virus zur Infektion der Virustiere benutzt. Als 2. Serie wurden zwischen dem 15. und 25. April in den Seuchenstall eingesetzt 2 weitere unbehandelte Tiere, 2 mit Serum gegen das filtrierbare Virus infizierte und ein 3. mit Voldagsen gefüttertes Ferkel. Und endlich wurden als 3. Serie zwischen dem 27. und 30. April in den Seuchenstall eingebracht zwei unbehandelte Tiere, ein mit Serum gegen das filtrierbare Virus geschütztes Ferkel, sowie ein 4. mit Voldagsen infiziertes Tier. Außerdem war während der ganzen Zeit das eine Virustier der ersten Versuchsserie wiederholt mit großen Kulturmengen des Bazillus Voldagsen gefüttert worden.

Insgesamt waren sonach in die Seuchenbucht eingesetzt worden: 5 Serumtiere, 3 Virustiere, 4 mit Voldagsen infizierte Ferkel sowie 1 Virustier, das zugleich mit Voldagsen-Bazillen gefüttert wurde, und 6 unbehandelte Schweine.

Von diesen 19 Tieren sind heute die 5 Serumtiere noch alle am Leben, vollkommen gesund und in völlig normaler Entwicklung. Es lebt ferner als Kümmerer ein unbehandeltes Tier der ersten Versuchsserie, was darauf beruht, daß, wie erwähnt, das zuerst zur Infektion benutzte Virus besonders schwach gewählt worden war.

Die 13 anderen Tiere sind jeweils ca. 3—4 Wochen nach dem Einsetzen in den Seuchenstall verendet. Durch die bakteriologische Untersuchung wurde in den Kadavern nachgewiesen:

1. bei den 5 experimentell mit Bazillus Voldagsen infizierten Ferkel: der Bazillus Voldagsen,

2. bei einem Virustier — der Bazillus Voldagsen,

3. bei den 2 anderen Virustieren — der Bazillus Voldagsen und der Bazillus Pestifer,

4. bei 2 unbehandelten Tieren — der Bazillus Voldagsen und der Bazillus Pestifer,

5. bei den 3 anderen unbehandelten Tieren nur der Bazillus *suipestifer*.

Unter den 13 eingegangenen Schweinen wurde sonach bei 10 der Bazillus Voldagsen gefunden.

Der Gesamtausfall des Versuches scheint uns nun nach verschiedenen Seiten hin lehrreich zu sein. Er zeigt unseres Erachtens einmal, daß auch unter den für eine Uebertragung des Bazillus Voldagsen so günstigen Bedingungen, wie wir sie in unserem Seuchenstalle geschaffen hatten, von den mit diesem Bazillus experimentell infizierten Schweinen eine Infektion gesunder Ferkel kaum stattfindet, denn entsprechend unserer Annahme sind alle unsere Serumtiere, trotzdem sie jetzt zum Teil 9 Wochen in ständigem und engstem Kontakt mit Voldagsen-Tieren in einer kleinen Bucht saßen, am Leben und gesund geblieben. In dieser Zeit sind in dieser Bucht 10 Tiere gefallen, aus deren Organen der Bazillus Voldagsen gezüchtet werden konnte. Andererseits ist das Auftreten des *Bacillus suipestifer* während des Versuches von gewissem Interesse. Offenbar haben sich unter den in der 2. Serie in den Seuchenstall eingesetzten Ferkeln Tiere befunden, bei welchen der *Bacillus suipestifer* normaler Weise im Darm enthalten war, und bei welchen es dann infolge der Viruserkrankung zu einer Einwanderung des *Bacillus suipestifer* in die Organe und zu einer reichlichen Ausstreuung dieses Bazillus im Seuchenstall kam. Schon an anderer Stelle hat Uhlenhuth darauf hingewiesen, daß bei den im Gesundheitsamt ausgeführten



Schweinepestversuchen mitunter in dem Seuchenstall einzelne Bakterienarten vorübergehend vorherrschend auftraten, und wir so zeitweilig z. B. in den Organen der gefallenen Tiere hauptsächlich Pestifer, dann längere Zeit nur Gärtner und während einer anderen Periode wieder meist die erwähnten Paratyphus B-gleichen aber für Paratyphus B Sera inagglutinablen Bakterien fanden. Diese Beobachtung ist wohl so zu erklären, daß jeweils gerade solche Bakterien im Seuchenstalle ausgestreut und auch von den an Schweinepest erkrankten Tieren wieder aufgenommen werden, welche die schon eingesetzten Tiere normalerweise im Darm beherbergt hatten. Es können hier verschiedene Bakterienarten in Betracht kommen; neben den schon erwähnten Pestifer- und Gärtnerbazillen, eben die Bakterien der Gläßer- und Voldagsen-Gruppe, aber auch wohl noch andere Bakterienarten. Ebenso wie im Seuchenstall werden auch die Verhältnisse bei den einzelnen Seuchengängen liegen. Wir werden auch hier jeweils bei den an Schweinepest verendeten Tieren hauptsächlich die Bakterien finden, welche gerade in diesem Bestande vorherrschend von den Schweinen normalerweise beherbergt werden. Offenbar kommen dabei in Beständen gleicher Zucht bezüglich der Bakterienflora lokale Verschiedenheiten vor und darauf beruht es wohl, daß auch bei den einzelnen Seuchengängen schon so verschiedenartige Bakterien bei Schweinepest gefunden worden sind. Hätten wir z. B. unsere Versuche nur mit gesunden Schweinen aus dem in Frage kommenden, den Bazillus Voldagsen beherbergenden Bestande ausführen können, so würde es wohl in dem Seuchenstalle auch nur zu einem sekundären Auftreten des Bazillus Voldagsen gekommen sein, während durch die von anderer Stelle eingekauften Ferkel der *Bacillus suipestifer* eingeschleppt wurde. Jedenfalls spricht aber die Tatsache, daß nicht alle gefallenen Tiere den Bazillus Voldagsen in ihren Organen aufwiesen, ebenfalls gegen eine besondere Infektiosität dieses Bazillus, zumal wenn man berücksichtigt, daß die Ferkel während der ganzen Dauer ihrer Krankheit mit schwer kranken Voldagsentieren in engster Berührung zusammen waren.

War somit dieser Versuch ganz unserer Annahme entsprechend ausgefallen, so gelang es uns außerdem auch, die zweite Forderung zu erfüllen, und in dem betreffenden Seuchengange das filtrierbare Virus selbst nachzuweisen, allerdings unter 3 Versuchen nur in einem Falle.

Daß der Nachweis des filtrierbaren Virus verhältnismäßig erschwert war und mit dem erhaltenen Material nur einmal gelang, liegt unseres Erachtens darin begründet, daß es sich in dem schon seit langer Zeit chronisch durchseuchten Bestande einmal um ein infolge der chronischen Durchseuchung abgeschwächtes Virus gehandelt hat, und wir andererseits auch nur Material verimpfen konnten von mehrere Tage alten Kadavern, bei denen schon Fäulnisvorgänge eingesetzt hatten. Wie Uhlenhuth nachgewiesen hat, ist das filtrierbare Virus gegen Fäulnisprozesse außerordentlich empfindlich. Mit Material von frisch gefallenen Schweinen wäre uns auch in diesem Falle der Virusnachweis wohl leichter gewesen. Jedenfalls beweist aber der, wenn auch nur in einem Falle gelungene Nachweis des Virus und namentlich der eindeutige Ausfall unseres Serumschutzversuchs, daß auch bei solchen Seuchengängen, bei denen der Bazillus Voldagsen gefunden wird, unsere Bekämpfungsmaßnahmen sich in erster Linie gegen das filtrierbare Virus richten müssen. Durch rechtzeitige Bekämpfung des filtrierbaren Virus wird auch die Aufnahme und Verbreitung des Bazillus Voldagsen wie die der übrigen Begleitbakterien der Schweinepest am sichersten zu verhüten



sein, da ja hauptsächlich nur die viruskranken, nicht aber die unter Serumschutz gegen das filtrierbare Virus stehenden gesunden Schweine für die bakteriellen Sekundärinfektionen empfänglich sind.

III. Teodorascu (Gr. Lichterfelde):

Untersuchungen über das agglutinatorische Verhalten von Paratyphus- und Pestifer-Stämmen.

Von Händel und Gildemeister war im vorigen Jahre kurz darauf hingewiesen worden, daß bei ihren Untersuchungen einige Suipestifer- und Paratyphus B-Kulturen gegenüber Seris, welche mit den kulturell von der Paratyphusgruppe vollkommen verschiedenen Voldagsen und Glässerstämmen hergestellt waren, insofern ein auffallendes Verhalten gezeigt hatten, als die Suipestiferkulturen durch die betreffenden Sera sehr hoch, zum Teil bis zur Titergrenze mitagglutiniert, die Paratyphus B-Stämme dagegen überhaupt nicht oder nicht in nennenswerter Weise beeinflußt wurden. Vortragender hat mit einer größeren Anzahl aus dem Menschen und aus Schweinen isolierter, der Paratyphus-Gruppe zugehöriger Stämme einige Versuchsreihen bezüglich des agglutinatorischen Verhaltens dieser Kulturen gegenüber Paratyphus-, Suipestifer-, Voldagsen- und Glässer-Seris angestellt und den Befunden von Haendel und Gildemeister entsprechende Ergebnisse erhalten.

(Der ausführliche Vortrag erscheint in der Zeitschrift für Immunitätsforschung.)

Diskussion:

Titze (Gr. Lichterfelde): Auf dem Gebiet der Schweineseuchen herrscht zurzeit eine ziemliche Verwirrung, die namentlich dadurch entstanden ist, daß der Tierarzt die eigentliche Schweinepest, die durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen wird, nicht mit Sicherheit diagnostizieren kann. Eine einwandfreie Diagnose auf Schweinepest läßt sich doch heute nur in der Weise stellen, daß mit steril filtriertem Material von verdächtigen Schweinen gesunde Schweine geimpft werden. Das positive Ergebnis spricht dann für das Vorhandensein der Schweinepest, während aus dem negativen Ergebnis nicht mit absoluter Sicherheit auf ihr Nichtbestehen geschlossen werden kann. Von großer veterinärpolizeilicher Bedeutung ist es, zunächst einfachere diagnostische Mittel ausfindig zu machen, zumal es seuchenhaft auftretende Darmkrankheiten der Ferkel gibt, die lediglich auf bazillärer Grundlage beruhen. Paratyphus B-Bazillen und verwandte Bakterien können selbständige Seuchen bei Ferkeln hervorrufen, die man mit dem Sammelnamen „Ferkelruhr" bezeichnen könnte. Solche bazillären Infektionen brauchen durchaus nicht im Gefolge der Schweinepest aufzutreten. Dies kann natürlich der Fall sein, da die Paratyphus B-Bazillen so außerordentlich verbreitet sind, daß sie sich mit unvollkommenen bakteriologischen Methoden schon bei fast 10% der gesunden Schweine nachweisen lassen. Die reinen bazillären Darmkrankheiten der Schweine stellen in der Hauptsahe eine Krankheit der frühen Jugend dar, im späteren Alter scheinen die Schweine gegen die erwähnten Bakterien ziemlich resistent zu sein.



Mießner (Hannover): Nach dem heutigen Stande der Wissenschaft müssen wir streng zwischen einer durch ein ultravisibles Virus erzeugten Schweinepest und der sog. bazillären Schweinepest, welche durch Bazillen aus der Paratyphusgruppe erzeugt wird, unterscheiden. Diese letztere wird am besten als Paratyphose bezeichnet. Den Untersuchungen Glässers zufolge gehören hierzu eben 1% aller früher als Schweinepest bezeichneten Erkrankungen. Die Untersuchungen in Hannover haben ergeben, daß tatsächlich solche reinen Paratyphosen, ohne daß ein ultravisibles Virus nachgewiesen werden kann, vorkommen und in einem Bestande einen seuchenartigen Charakter annehmen.

Händel (Groß-Lichterfelde): Die Ergebnisse unserer Versuche scheinen uns überzeugend dafür zu sprechen, daß dem Bazillus Voldagsen eine größere Bedeutung als besonderer Seuchenerreger ähnlich der des filtrierbaren Schweinepestvirus nicht zukommt. Es wäre sonst gar nicht zu verstehen, daß bei den für eine Voldagseninfektion günstigsten Bedingungen, wie wir sie geschaffen hatten, alle Tiere, welche nur gegen das filtrierbare Virus durch Serum geschützt waren, vollkommen gesund geblieben sind, obwohl sie die lange Zeit in einer kleinen Bucht in engster Berührung mit schwer an Voldagseninfektionen erkrankten Tieren zusammengehalten waren. Des weiteren spricht für die Richtigkeit der Uhlenhuthschen Annahme, daß wir gleich in dem ersten Bestande, in welchem wir den Bazillus Voldagsen gefunden hatten, auch das filtrierbare Virus nachweisen konnten. Daß der Bazillus Voldagsen für ganz junge Tiere eine gewisse Pathogenität besitzt, soll nicht geleugnet werden, es gibt aber noch eine ganze Reihe anderer derartiger Bazillen. So können der Bazillus Glässer wie auch gewöhnliche Pestifer- oder Gärtnerstämme in ähnlicher Weise für Schweine pathogen sein. Alle diese Bakterien erlangen aber nur eine Bedeutung und kommen nur hoch in Beständen, in denen ihnen das filtrierbare Virus den Boden geebnet hat.

IV. v. Dungern:

Die Karzinomfrage.

Die Frage nach dem Wesen des Karzinoms beschäftigt die Wissenschaft schon lange und in dem letzten Jahrzehnt hat man sie besonders eifrig bearbeitet. Die verschiedensten Wissenschaften haben sich in den Dienst der Karzinomforschung gestellt, zu den histologischen Untersuchungen der pathologischen Anatomie sind die Methoden der experimentellen Pathologie, Bakteriologie, Serologie, Biochemie und Epidemiologie hinzugekommen, und ein großes Tatsachenmaterial ist bekannt geworden. Es kann natürlich nicht die Aufgabe eines kurzen Referates sein, alle Beobachtungen, die mehr oder weniger mit der Frage nach dem Wesen des Karzinoms im Zusammenhang stehen, zu erwähnen, und alle Theorien, die aufgestellt worden sind, um die Erscheinungen unter einfache Gesichtspunkte zu bringen, kritisch zu besprechen. Ich muß mich darauf beschränken, die wichtigsten Tatsachen kurz zu erwähnen, die mir geeignet erscheinen, unsere Anschauungen in bestimmte Bahnen zu lenken. Ich beschränke mich außerdem auf die Biologie und Aetiologie, da Herr Professor Kraus die übrigen Fragen besprechen wird. Die hervorstechendste Eigenschaft der malignen Tumoren, die schon vor Jahren von den Pathologen erkannt wurde, ist das dauernde Wachstum der Tumoren aus sich selbst heraus; alle Tochtergeschwülste,



die nach und nach im Körper auftreten, leiten sich aus dem Gewebe der zuerst gebildeten Geschwulst ab, während bei den eigentlichen Infektionsgeschwülsten dies nicht der Fall ist; hier wird nur der Erreger verschleppt und die neugebildeten Geschwülste entstehen an Ort und Stelle aus dem Gewebe der Umgebung. Bei den meisten Karzinomen läßt sich dies schon histologisch feststellen, bei den Sarkomen ist die Entscheidung dagegen auf histologischem Wege sehr schwierig. Wenn es gelingt, den Tumor in einer verwandten Tierart zum Wachstum zu bringen, kann die Unterscheidung biologisch gewonnen werden; so habe ich gefunden, daß die Hasensarkome im Kaninchen aus sich selbst heraus wachsen, während das auf den Fuchs übertragene Lymphosarkom des Hundes nicht aus Hundegewebe besteht. Die Eigenschaft aus sich selbst herauszuwachsen gehört unbedingt zum Begriff des malignen Tumors und wir sollten uns streng an diese Begriffsbestimmung halten. Damit soll nicht gesagt werden, daß nicht Uebergänge zwischen echten malignen Tumoren, die aus sich selbst herauswachsen und Geschwülsten, die nach dem gewöhnlichen Infektionstypus wuchern, denkbar sind.

Die Art des Wachstums unterscheidet in erster Linie das maligne Gewebe vom benignen. Die Gesetze des harmonischen Zellwachstums sind durchbrochen. Daneben treten noch andere Eigenschaften hervor, die sich unter zwei Gesichtspunkte einordnen lassen; das Krebsgewebe zeigt sich weniger organisiert und beeinflußt die Umgebung anders als normales Gewebe. Durch diese Eigenschaften wird die Krebszelle für den Organismus etwas Fremdartiges, das ihn ähnlich wie ein fremder Mikroorganismus schädigt. Dadurch wird die Biologie der Krebszelle ganz unabhängig von der Aetiologie, schon ein Problem für sich. Die Aufgabe der Wissenschaft ist es demnach einerseits die Biologie festzustellen und andererseits die Aetiologie.

Das wesentlichste Ergebnis der experimentellen Krebsforschung ist die Möglichkeit, tierische Krebse auf andere Individuen zu übertragen, was Hanau und Moreau zuerst gelang und dann in großem Maßstabe von Jensen, Ehrlich, Bashford, Borell und vielen anderen ausgeführt wurde. Die kasuistischen Erhebungen haben gezeigt, daß bösartige Geschwülste nicht nur beim Menschen, sondern bei den meisten Wirbeltieren häufig und vielseitig ausgebildet vorkommen. Die meisten Tumoren sind jedoch nicht auf andere Individuen übertragbar. Am besten gelang es gewisse Karzinome und Sarkome bei Mäusen und Ratten durch fortgesetzte Transplantation weiter zu züchten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß es sich hier um echte maligne Geschwülste handelt, wenn auch manche Eigenschaften besonders maligner Tumoren, infiltrierendes Wachstum und Metastasenbildung, weniger ausgesprochen sind. Ehrlich gelang es zuerst durch fortgesetzte Ueberimpfung den Prozentsatz der positiven Impfungen zu erhöhen und somit ähnlich wie bei einem fremden Mikroorganismus die Wachstumsmöglichkeit, die Virulenz zu steigern. Die für Karzinome disponierenden Momente, wie höheres Alter, sind für die Transplantationsmöglichkeit belanglos. Diese Feststellung spricht unbedingt gegen alle konstitutionellen Theorien wie die von Tiersch, Rössel, Spude, Fischer, welche die malignen Tumoren durch Modifikation anderer Gewebe des Organismus erklären wollen, ohne daß diese selbst eine wesentliche Alteration erfahren müssen.

Die Ausschaltungstheorie von Ribbert, die früher zu so vielen Diskussionen Veranlassung gab, brauchen wir wohl auch nicht mehr zu berücksichtigen. Die Ausschaltung als solche kann niemals eine fundamentale



Aenderung in der Wachstumsart der Zellen bringen. Durch Transplantation von normalem Gewebe werden Tumoren nicht erzeugt und auch dann, wenn die Zellen durch Reize ganz im Sinne Ribberts allmählich an einen fremden Ort gelangen und aus dem Verbande ausgeschaltet werden, wie es z. B. bei den Versuchen Fischers mit Scharlachrot in besonders ausgesprochener Weise der Fall war, kam es nie zu einem unbeschränkten Wachstum, sondern die Wucherung blieb stehen, sobald die Reizwirkung abgeklungen war. Wir müssen unbedingt die Veränderungen, welche die Malignität bedingen, in den malignen Zellen selbst suchen. Die Uebertragungsversuche zeigen ja mit Sicherheit, daß die malignen Zellen von dem benignen Ausgangsgewebe verschieden sind. Viele Forscher waren bemüht, diese Unterschiede genauer zu präzisieren. So haben Farmer, Moore und Walker die Fähigkeit der malignen Zellen, unbeschränkt zu wuchern, mit der Wucherungsfähigkeit, welche das Ei nach der Befruchtung erlangt, in Analogie gesetzt. Sie glaubten morphologische Anhaltspunkte dafür zu finden, indem sie beobachteten, daß die Karzinomzellen bei der Teilung nur halb so viel Chromosomen bilden wie die Epithelzellen und verglichen diese Verminderung mit jener, welche nach dem Reifungsvorgang im Ei zu konstatieren ist. v. Hansemann fand jedoch, daß die Verminderung der Chromosomenzahl in den Kernen der Karzinomzellen unregelmäßig vor sich geht, und Löwenthal und Michaelis konnten sogar unzweifelhafte Längsteilung der Chromosomen nachweisen, welche der Teilung vorausgehen und eine Verdoppelung der Chromosomenzahl bedingen. Es kann demnach von einer echten Reduktionsteilung nicht die Rede sein. Ob eine Konjugation von Zellkernen in Karzinomen vorkommt, ist zum mindesten unerwiesen.

Die chemischen Untersuchungen, die vor allem von Wolff, Blumenthal, Neuberg, Bergell und Dörpinghaus ausgeführt wurden, haben vielfach auffallende Funde gezeitigt. Man fand abnorme Zusammensetzungen der organischen Bestandteile und ein abweichendes Verhalten den Fermenten gegenüber. Die untersuchten Tumoren wurden von Pepsinsalzsäure wenig angegriffen, durch Trypsin dagegen verdaut. Auch der Fermentgehalt des Krebsgewebes wurde vielfach vermehrt gefunden, und nach Neuberg, Blumenthal und Wolff sollen auch qualitative Verschiedenheiten bestehen. Nach ihren Beobachtungen besitzt das Krebsgewebe ein heterolytisches Ferment, welches den nicht koagulablen Stickstoff, der bei der Autolyse von Lebergewebe z. B. entsteht, vermehrt. Ob dieses abnorme heterolytische Ferment der Krebszelle wirklich existiert, scheint mir sehr fraglich zu sein. Heß und Sachsl und Kepinow fanden keine Steigerung der Leberautolyse bei Zusatz von nicht ulzeriertem Mammakarzinom und Müller konnte auch kein heterolytisches Ferment in Karzinomen auf der Serumplatte nachweisen. Da maligne Tumoren häufig polynukleäre Leukocyten und Bakterien enthalten, so können auch von diesen aus heterolytische Fermente in das Geschwulstgewebe gelangen. Die Methode ist meines Erachtens auch nicht geeignet um heterolytische Fermente zu beweisen, da eine Vermehrung des inkoagulablen Stickstoffes beim Vermischen des Geschwulst- und Lebergewebes auch durch Vermehrung der Autolyse erklärt werden könnte. Auch die veränderte chemische Zusammensetzung kann nicht in allen Fällen nachgewiesen werden. Es erscheint daher fraglich, ob die Methoden überhaupt ausreichen, um über Verschiedenheiten in der Zusammensetzung des lebenden Protoplasmas Auskunft zu geben. Die Malignität ist durch ein chemisch greifbares Prinzip jedenfalls vorderhand nicht zu charakterisieren,

dazu sind die Resultate nicht konstant genug und vor allem sind viel zu wenig Versuche mit benignen Zellen unter abnormen Verhältnissen angestellt worden. Das gleiche gilt auch von der vermehrten und abnorm veränderten Spaltung der Polypeptide, welche durch Fischer und Neubroner und Abderhalden und seine Mitarbeiter festgestellt wurde. Daß ein abnormer Stoffwechsel im Karzinomgewebe besteht, ist an und für sich wahrscheinlich. Dafür sprechen ja schon die Serumreaktionen. Diese Veränderungen des Blutserums zeigen jedoch auch eine große Verwandtschaft mit denjenigen, die man bei Infektionskrankheiten, besonders bei Syphilis und Tuberkulose konstatieren kann, wenn sie auch durch genauere Untersuchung meist abgetrennt werden können. Sie sind daher nicht geeignet, den Stoffwechsel der malignen Zellen von demjenigen des benignen Gewebes prinzipiell abzutrennen. Auch die Karzinomkachexie ist nicht charakteristisch. Viele Kliniker leugnen sie ganz und führen die vermehrte Stickstoffausscheidung und die Anämie der Kranken auf andere Momente zurück, auf Inanition, Gewebszerfall, bakterielle Infektionen. Andere nehmen wenigstens für einzelne Fälle eine spezifische Stoffwechselstörung an. Sicher ist es, daß ausgedehnte maligne Tumoren wachsen können, ohne daß Kachexie auftritt.

Einen weiteren Einblick in das Wesen der Karzinomzellen konnte man auch von Immunisierungsversuchen erwarten, die in großer Menge im Tierexperiment ausgeführt worden sind, nachdem es gelang, tierische Karzinome zu transplantieren. Nach den ersten Versuchen von Jensen und den ausgedehnten Experimenten Ehrlichs und Bashfords haben sich noch viele Forscher an diesen Untersuchungen beteiligt. Es unterliegt keinem Zweifel mehr, daß man die Versuchstiere durch Vorbehandlung gegen die Transplantation von malignem Tumorgewebe schützen kann. Ehrlich fand weiter, daß die mit hämorrhagischen Spontantumoren immunisierten Mäuse gegen Mäusekarzinom und gegen Mäusesarkom unempfindlich, aber nur in geringeren Graden gegen Chondrom geschützt waren. Nach diesem Befund der Panimmunität, der seither bestätigt wurde, hätte man noch an ein besonders in den Geschwülsten vorhandenes, Immunität erzeugendes Agens denken können. Weitere Untersuchungen von Bashford, Cramer, Murray, Schöne, Michaelis, Borrel und Bridré und Lewin zeigten jedoch, daß man mit normalen Geweben ganz gut gegen maligne Tumoren schützen kann. Wir sehen also, daß die entstehende Unempfänglichkeit durchaus nicht an die Malignität der Zelle gebunden ist. Die normale Zelle hat in gleicher Weise die Fähigkeit, die Immunitätsreaktion auszulösen, sobald die Bedingungen dazu gegeben sind. Unentschieden ist noch die Frage, ob man gegen autochthone Geschwülste immunisieren kann und ob das Gewebe des eigenen Körpers, Geschwulstresistenz verleihen kann. Die Versuche von Schöne und Haaland führten zu keinem positiven Ergebnis. Die Angabe von Woglom, daß Mäuse durch Injektion des Gewebes ihrer eigenen Milz gegen Karzinomtransplantation resistent werden, wurde von Apolant nicht bestätigt. Theoretisch ist die Möglichkeit gegeben, da nach den Versuchen in meinem Laboratorium von mir und Hirschfeld, von Adler und Halpern im Gegensatz zwischen körpereignen und körperfremden Substanzen in bezug auf Antikörperbildung nicht besteht, wenn die protoplasmatischen Substanzen zirkulationsfremd sind. Was das Wesen der Geschwulstimmunität betrifft, so erklären die meisten Untersucher wie Bashford, Uhlenhuth und ich, die Erscheinungen durch Gegenreaktionen des Organismus,



welche die Tumorzellen schädigen. Ehrlich und Apolant glauben, daß außerdem noch Veränderungen in den Ernährungsverhältnissen von großer Bedeutung sind, welche durch die wachsenden Tumorzellen bedingt werden. Der Mangel an wichtigen Nahrungsstoffen soll die Immunität verursachen. Die Experimente, welche diese athreptische Immunität beweisen sollen, sind nicht eindeutig und haben zu Kontroversen geführt, auf die ich hier nicht im einzelnen eingehen kann. Es handelt sich im wesentlichen um den Erfolg von Doppelimpfungen, der verschieden ausfallen kann. Die athreptische Immunität wird gestützt aber auch noch nicht bewiesen, wenn die zweite Impfung nicht angeht, solange ein Tumor vorhanden ist, nach seiner Entfernung aber, wie in den Versuchen Schönes erfolgreich ist, da der erste schnellwachsende Tumor nach Ehrlichs Theorie die spezifischen Nährstoffe an sich zieht. Gegen athreptische Einflüsse spricht durchaus die Operationsimmunität, die von Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen bei Rattensarkom beobachtet wurde. Während radikal operierte Tiere ohne Rezidiv immun waren, blieben die Ratten für die nachfolgende Tumorimpfung empfänglich, wenn unvollkommen exstirpiert wurde und ein Rezidiv entstand. Apolant fand bei der Nachprüfung öfters die gleiche Gesetzmäßigkeit und auch Meidan bestätigte Uhlenhuths Beobachtungen. Apolant bestreitet, daß die Entfernung des Tumors als solche die Immunität bedingt; er glaubt, daß gerade bei den radikal operierten Tieren kleine Tumorteile zur Resorption gelangt sind und die Resistenz hervorrufen. Für die Frage der athreptischen Immunität ist dies jedoch belanglos, da Apolant ebenso wie Uhlenhuth eine Reaktionsimmunität zur Erklärung heranzieht. Apolant glaubt ferner, daß die rezidivfrei gebliebenen Ratten vielleicht schon von Natur unempfänglich waren. In einem gewissen Gegensatz zur Operationsimmunität steht die Tatsache, daß Rezidive meist rascher wachsen als die primären durch Operation entfernten Tumoren und daß in den Versuchen von Clunet nach der Operation des Tumors viel häufiger Metastasen beobachtet werden als ohne operativen Eingriff. Aber auch diese Erscheinungen sind nicht beweisend für eine athreptische Immunität, welche durch die Entfernung des Tumors gebrochen wird, sie können auch durch lokale Veränderungen in den Zirkulationsverhältnissen oder durch lokale Reizwirkungen erklärt werden.

Bei meinen Versuchen mit Hasensarkom habe ich Reaktionen gesehen, die ich auf eine anaphylaktische Gewebsreaktion zurückführe. Es ließ sich nachweisen, daß es bei den immunen Kaninchen nach der Injektion der Sarkomzellen häufig zu einem hochgradigen Oedem kommt, während die nicht immunen Tiere, die zum erstenmal geimpft werden, nur eine geringe Reaktion zeigen. Man kann sich vorstellen, daß die Ueberempfindlichkeitsreaktion die eingeführten Geschwulstzellen entweder direkt schädigt oder die Zellen des Versuchstieres zu einer die Geschwulstzellen schädigenden Tätigkeit anregt. Die zellulären Reaktionen waren sehr verstärkt; sie waren besonders hochgradig, wenn die Tumoren spontan oder unter dem Einfluß einer zweiten Injektion zurückgingen. Vor allem traten neben Plasmazellen und Lymphocyten Makrophagen auf, oft in so großer Menge, daß sie die Gefäße vollkommen ausfüllten. Das Gewebe ist vollkommen dem tuberkulösen Gewebe entsprechend. Da Fano hat unter gewissen Bedingungen auch gegenüber Mäusekarzinom zelluläre Reaktion beobachtet; bei stark immunisierten Tieren wird sie jedoch vermißt und das zeigt, daß die zelluläre Reaktion nicht die einzige Grundlage für die Immunität gegen Geschwülste sein kann. Man



kann zur Erklärung an cytolytische Antikörper denken. Es ist aber auch sehr gut möglich, daß es sich im wesentlichen nicht um eine Antikörperimmunität handelt, sondern um eine Resistenzsteigerung anderer noch unbekannter Art. Man könnte sich z. B. vorstellen, daß die Gefäße durchlässiger werden für tumorschädigende Substanzen, wie sie von Freund-Kaminer ja gerade im normalen Serum gefunden wurden. Einige Beobachtungen von mir bei Hasensarkom, von Clowes, Gaylord und Baeslack bei Mäusekarzinom, von Gay und Lewin bei Rattensarkomen sprechen dafür, daß das Serum der immunen Tiere die Immunität auf andere Tiere übertragen kann. In anderen Fällen wurden Antikörper nach der Vorbehandlung nicht nachgewiesen, und bei direkter Einwirkung des Serums war in den Versuchen H. Hirschfelds das Normalserum sogar wirksamer entsprechend der Freund-Kaminerschen Serumreaktion. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß es verschiedene Arten von Geschwulstimmunität gibt, und daß neben der wenig spezifische Resistenzerhöhung, die nach den Versuchen von Moreschi und Lewin sogar durch artfremde Gewebe erzeugt werden kann, noch eine spezifische auf Antikörpern beruhende Immunität zustande kommen kann. Aus den bisherigen Untersuchungen ist mit Sicherheit jedoch nur das zu entnehmen, daß man die Versuchstiere auch mit benignem Gewebe fast ebensogut resistent machen kann wie mit malignem. Die Immunitätsreaktionen geben uns daher auch nicht die Möglichkeit, eine scharfe Unterscheidung von malignem und benignem Gewebe vorzunehmen und es bleibt somit nichts anderes übrig, als die Erscheinungen der Malignität theoretisch unter möglichst einfache Gesichtspunkte zu bringen.

Manche Autoren wie Klebs, Hauser und Israel sprechen von der Entstehung neuer Zellrassen auf dem Wege der Anpassung. Diese Definition ist gewiß nicht unberechtigt, nur ist damit nicht erklärt, woran sich die Zellen anpassen, denn gewöhnliche Reize bedingen eine solche Veränderung nicht. Auch der Begriff der Anaplasie von Hansemanns, welcher besagt, daß die malignen Zellen an Differenzierung verloren und an Selbständigkeit gewonnen haben, wird den Erscheinungen nicht vollkommen gerecht, da er 2 Eigenschaften vereinigt, die voneinander unabhängig sein können. Werner und ich haben zur Erklärung der Malignität in den Zellen Wachstumshemmungen supponiert, welche durch Reize zerstört werden und nach dem Abklingen des Reizes sich wieder regenerieren. Die verminderte oder aufgehobene Reaktionsfähigkeit soll die Malignität bedingen. Wir haben diese negative Formulierung gewählt, weil es auf diese Weise gelingt, das schrankenlose Wachstum zu erklären, auch ohne daß ein dauernder Wachstumsreiz vorhanden zu sein braucht. Die Möglichkeit, daß ein solcher in Gestalt eines Parasiten besteht, wird durch unsere Ueberlegungen jedoch keineswegs ausgeschlossen.

Wenn man die ätiologischen Momente in das Auge faßt, auf welche die Erfahrung hinweist, so sind es einerseits Entwicklungsstörungen und andererseits Reizwirkungen der verschiedensten Art. Die Conheimsche Theorie und die von Schwalbe und Borst stützt sich auf die erstere, die Reiztheorie auf die zweite Kategorie der Erscheinungen. Bei genauerer Betrachtung zeigt es sich jedoch, daß alle diese ätiologischen Momente die man bis jetzt gefunden hat, nicht ausreichend sind. Die Ausschaltung von embryonalen Keimen im Sinne von Cohnheim ist nur in wenigen Fällen nachweisbar und außerdem auch nicht geeignet, das maligne Wachstum zu erklären, da die embryonale Zelle als solche nicht die Tendenz dazu besitzt und viele ausgeschaltete Keime



während des ganzen Lebens nicht entarten. Eine andersartige kongenitale Mißbildung, die zur Entstehung von Tumoren disponiert, kann man theoretisch ja schließlich in jedem Fall annehmen. Doch sind es nur seltene Fälle in denen eine sichtbare Abartung zu dieser Annahme direkt auffordert.

Einzelne Tatsachen, wie die relativ häufige Entstehung maligner Tumoren aus Nävis, aus versprengten Keimen der Nebenniere oder des Bronchialbaumes, aus Choriongewebe zeigen jedoch, daß kongenitale Momente sicherlich nicht ohne Einfluß auf die Entstehung mancher Tumoren sein können. Wenn man die experimentellen Untersuchungen betrachtet sieht man das gleiche Bild. Die Einpflanzung von embryonalem Gewebe in den fremden Tierkörper gibt wohl gutartige Teratome, aber keine bösartigen Geschwülste. Eine Ausnahme bildet der Fall von Askanazy. Bei einer Ratte entstand aus einem künstlichen Teratom, das 2 Jahre stationär geblieben war, ein schnellwachsender sarkomatöser Tumor. Weiterimpfungen blieben erfolglos. Man kann bei diesem seltenen Vorkommnis einen sekundären geschwulsterzeugenden Faktor aber auch nicht ausschließen.

Die bekannten Reize, welche der Geschwulstentwicklung häufig vorausgehen, rufen eine solche auch nicht gesetzmäßig hervor. Experimentell ist es nie gelungen durch einen bestimmten lange fortgesetzten Reiz physikalischer oder chemischer Natur eine bösartige Geschwulst zu erzeugen. Nach den Reizversuchen von Werner ist dies auch gar nicht anzunehmen, da die Zellen entweder zugrunde gehen oder dem Reiz gegenüber allmählich widerstandsfähiger werden. Eine Andeutung von Veränderungen nach der Seite der Malignität zu wurde von ihm nur unter bestimmten komplizierten Bedingungen beobachtet. Wenn ein Reiz von relativ starker Intensität ohne Erholungsmöglichkeit rasch hintereinander angewandt wurde, oder wenn ganz verschiedene Reize kombiniert wurden, dann war die Dauer des erhöhten Wachstums gesteigert. Zu einem malignen Wachstum kam es aber unter diesen Bedingungen nicht. Die gewöhnlichen Reize sind somit nicht geeignet, zur Entstehung maligner Tumoren Veranlassung zu geben. Die theoretischen Erwägungen führen uns demnach dazu, nach spezifischen Reizen zu suchen und da wird man in allererster Linie, da das Karzinom ja als lokale Erkrankung beginnt, an Mikroorganismen zu denken haben. Daß spezifische Mikroorganismen zu starken langdauernden Wucherungen des Gewebes Veranlassung geben können, zeigen z. B. die Pflanzentumoren, bei denen Smith den spezifischen Erreger in Form eines kleinen Bazillus gefunden hat. Die Bazillen sind in dem wuchernden Gewebe nicht sichtbar, aber durch Kultur nachweisbar. Solche Wucherungen werden nur durch spezifische Erreger erzeugt, während andere Bazillen zum Absterben des Gewebes führen. Der Gegensatz zwischen echten Tumoren und Granulomen ist bei Pflanzen ja nicht vorhanden, aber auch bei Tieren ist er kein absoluter. Auch bei Tieren sind infektiöse Geschwulstformen bekannt, deren Gewebsart nicht nach der Art der gewöhnlichen Granulome zusammengesetzt ist, sondern nur aus einer bestimmten Zellart besteht; so das transplantable Lymphosarkom und die Epitheliosen, welche Borell genau studiert hat. Der wesentliche Unterschied ist nur der, daß diese Infektionsgeschwülste nicht dauernd aus sich heraus wachsen. Man könnte aber annehmen, daß die echten Tumoren solche Infektionsgeschwülste sind, bei denen die ergriffenen Zellen unter dem Einflusse des Parasiten nicht leicht absterben, während andererseits eine Infektion weiterer noch gesunder Zellen sehr schwer erfolgt. Die Tatsache, daß die Metastasen in den verschiedensten Organen fast immer



aus dem Gewebe des primären Tumors bestehen, ohne daß maligne Wucherungen des umliegenden Gewebes auftreten, spricht noch am meisten gegen das Vorhandensein eines dauernd anwesenden Parasiten, sie ist aber, wie gesagt, kein absolut sicherer Gegenbeweis. Es sind auch im Verlaufe der experimentellen Untersuchungen wiederholt Beobachtungen gemacht worden, welche dieser Gesetzmäßigkeit widersprechen und sich ganz gut durch die Uebertragung eines krebserregenden Parasiten auf andere Gewebszellen erklären lassen. Ehrlich und Apolant beobachteten zuerst bei einem Tumor der 10. Impfgeneration eines Mäusekarzinoms eine plötzliche Umwandlung des Stromas in Sarkom. Die 4 nächsten Generationen waren eine Mischgeschwulst; der Karzinomanteil trat immer mehr zurück und schließlich wuchs der Tumor ausschließlich als Spindelzellensarkom. Eine solche Sarkomentwicklung ist dann bei der Transplantation von Mäusekarzinom sehr häufig konstatiert worden, so von Lippmann, von L. Loeb, von Bashford, der diesen Vorgang im ganzen 3mal beobachtete, von Lubarsch, von Stahl, von Ranke, von Lewin. Die gleiche Sarkomentwicklung fand Lewin auch nach der Transplantation eines Ratten-Adenokarzinoms in der 5. Generation und zwar nahmen die weiteren Impfgenerationen sowohl reinen Spindelzellencharakter als auch reinen Rundzellentypus an, während andere Impfserien gemischtzelligen Bau aufwiesen. Diese Geschwülste zeigten durchaus malignes Wachstum und besaßen alle Eigenschaften, die man auch sonst bei Rattensarkomen zu sehen gewöhnt ist. Man kann gegen diese Beobachtungen nicht anführen, daß die Mischgeschwulst schon von Anfang an bestanden habe, dazu sind die Untersuchungen zu sorgsam ausgeführt und die Veränderungen im Verlaufe der Impfungen zu häufig beobachtet. Nur ein Einwand ist beachtenswert. Die Mäusekarzinome werden von manchen Pathologen nicht vom Drüsenepithel, sondern vom Endothel abgeleitet; da die Endothelzellen sowohl zur Bildung karzinomatöser wie auch sarkomatöser Tumoren führen können, so liegt dann die Möglichkeit vor, daß die neu entstandenen Sarkome nicht neue Tumoren sind, sondern nur andere Wachstumsformen des gleichen Tumors. Gegen diese Auffassung sprechen jedoch die genauen histologischen Untersuchungen Apolants, welche die Ableitung des Mäusekarzinoms vom Drüsenepithel der Mamma sehr wahrscheinlich machen. Das Neuauftreten von Tumoren von anderem Bau nach der Tumortransplantation ist auch noch in anderen Fällen beobachtet worden. Lewin erhielt nach subkutaner Transplantation eines Adenokarzinoms der Ratte bei einem Tumor der dritten Generation ein Cancroid. Borell machte eine ähnliche Beobachtung, Sticker fand bei einer Hündin ein langsam sich entwickelndes Mammakarzinom vor, nachdem er Gewebe von Spindelzellensarkom injiziert hatte. Lewin und Ehrenreich sahen nach der Ueberimpfung eines primären Spindelzellensarkoms bei der Ratte die Entstehung eines soliden Karzinoms. Man kann auch hier metaplastische Prozesse im primären Tumor oder unabhängige Entwicklung der zweiten Geschwulst nicht sicher ausschließen, doch ist die Möglichkeit, daß es sich um eine Neubildung von Tumoren anderer Gewebsart, welche das injizierte Gewebe bedingt hat, handelt, gewiß nicht unwahrscheinlicher. Wenn man die letztere Annahme macht, liegt es nahe, an spezifische Tumorerreger zu denken, welche aus dem Gewebe der primären Geschwulst ausnahmsweise unter gewissen Bedingungen in das gesunde übertreten und diese zum malignen Wachstum anregen. Es ist freilich auch möglich, daß die maligne Zelle selbst es ist, welche durch ihren veränderten Stoffwechsel den Reiz für die Neu-



entstehung maligner Zellen abgibt. Man sollte dann erwarten, daß auch anderes pathologisches Gewebe zur Entstehung maligner Tumoren Veranlassung geben kann. In der Tat sieht man ja häufig auf dem Boden von Geschwüren, Narben, syphilitischen und tuberkulösen Gewebsveränderungen Karzinome entstehen. Auch experimentell sind manchmal nach der Injektion nicht spezifischer Mikroorganismen maligne Tumoren entstanden, so in den Versuchen von San Felice mit Hefe, von Schmidt mit Mukor, von Jensen mit einem säurefesten Bazillus. Diese Beobachtungen sind jedoch auch nur Ausnahmefälle, sie schließen die Möglichkeit einer sekundären Infektion mit spezifischen Parasiten oder einer sonstigen Entstehung dieser Tumoren nicht völlig aus.

Beweisend für die infektiöse Natur der Tumoren muß es auch sein, wenn eine Uebertragung gelingt ohne daß die Tumorzellen der bösartigen Geschwulst selbst wachsen können. Solche Bedingungen sind gegeben, wenn man die Tumorzellen mechanisch abtötet oder durch Filtration entfernt, oder wenn man die Impfung bei einer ganz fremden Tierart vornimmt, in welcher die Tumorzellen selbst nicht wachsen können. Die Versuche mit zertrümmerten Karzinomzellen Karzinome hervorzurufen, die von Jensen und anderen gemacht wurden, sind erfolglos gewesen. Mit zellfreien Filtraten von malignen Geschwülsten speziell von Karzinomen Tumoren zu erzeugen, ist im allgemeinen auch nicht geglückt. Positive Resultate erzielte nur Rous mit einem sehr malignen Spindelzellensarkom vom Huhn, wenn er Berkefeldfilter benutzte, welche für den *Bacillus prodigiosus* gerade nicht mehr durchlässig waren. Das Spindelzellensarkom des Huhnes scheint demnach durch einen Mikroorganismus erzeugt zu werden, der kleiner ist als der *Bacillus prodigiosus*. So interessant und wichtig diese Beobachtungen aber auch sind, so kann ein Rückschluß auf die infektiöse Natur des Karzinoms daraus noch nicht gezogen werden. Denn es ist nicht bewiesen, daß dieses Spindelzellensarkom ein echter aus sich herauswachsender maligner Tumor ist. Es kann sich auch um eine Geschwulst handeln, die wohl histologisch von den gewöhnlichen Granulomen verschieden ist, in der Art des Wachstums diesen jedoch entspricht, ebenso wie das Lymphosarkom des Hundes nach meinen Versuchen.

Die Uebertragung menschlicher Sarkome auf Maus, Ratte, Hund, Kaninchen, die häufig vorgenommen wurde, verlief im allgemeinen auch völlig ergebnislos. Die meisten Angaben über gelungene Uebertragung halten der Kritik nicht stand. Es sind jedoch einige Fälle bekannt geworden, welche unsere Beachtung in hohem Maße verdienen: vor allem die Beobachtungen von Jürgens, Dagonet, Werner und Lewin. Eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Ausgangsmaterial hatten die Impftumoren nur in den Beobachtungen von Dagonet und Werner, bei denen es sich um Karzinome handelte. Hier liegt immerhin die Möglichkeit vor, daß die übertragenen Tumorzellen selbst im fremden Organismus weitergewachsen sind und die Tumoren gebildet haben. Das wäre aber auch eine recht ungewöhnliche Erscheinung. Ein länger dauerndes Wachstum in einer fremden Tierart ist bis jetzt nur für die Hasensarkome im Kaninchenorganismus von mir sicher erwiesen. Lewin hat außerdem nach der Injektion von Rattensarkom in der Maus einen Tumor erhalten, der dem Ausgangsgewebe entsprach. Im allgemeinen vermögen aber auch die Tumorzellen nicht in einer fremden Tierart zu wachsen. Ein kurz dauerndes Wachstum von wenigen Tagen beobachtet man jedoch häufig; der Fall von Langenbach ließe sich so erklären. Es ist daher nicht

mit Sicherheit auszuschließen, daß unter besonderen Bedingungen auch ein langdauerndes Wachstum zustande kommen kann. In den sonstigen Fällen entstanden Tumoren, die sich von dem Ausgangsgewebe deutlich unterschieden. Es handelt sich um granulomartige Wucherungen. Besonders interessant ist der Fall von Lewin, der nach der Uebertragung eines bösartigen Ovarialkarzinoms in den Hund eine sarkomartige Geschwulst erhielt, die sich durch 12 Generationen auf Hunden fortzüchten ließ. Ich glaube nicht, daß man diesen Befund ohne weiteres als ein zufällig entstandenes Granulom abtun darf. Diese Möglichkeit ist freilich nicht auszuschließen; es ist aber auch denkbar, daß die erzeugte Geschwulst, selbst wenn sie ein Granulom ist, durch einen Erreger erzeugt wird, der sich in dem Ovarialkarzinom gefunden hat und für dieses ätiologische Bedeutung besitzt.

Für das Vorhandensein einer infektiösen Ursache des Karzinoms hat man auch das gehäufte Vorkommen von Erkrankungen bei Tieren an bestimmten Orten angeführt. Moreau hat zuerst auf diese interessante Erscheinung aufmerksam gemacht: er brachte in einen Käfig in dem sich nur gesunde Mäuse befanden, eine große Anzahl Wanzen, die aus einem Käfig mit karzinomkranken Mäusen entnommen waren und beobachtete dann einige Monate später, daß fast alle Mäuse Karzinom bekamen. Auch nach der Verfütterung von Karzinommaterial traten Geschwülste auf. Solche Beobachtungen wie die Moreaus sind später niemals wieder gemacht worden. Gehäuftes Auftreten von bösartigen Geschwülsten unter Mäusen oder Ratten in einem Käfig oder in einer Züchterei, unter Salmoniden in einem Teich oder in einem ganzen Bezirk, unter Rindern auf einer Trift gehört dagegen zu den regelmäßigen Erscheinungen, die wohl kaum geleugnet werden können. Es ist dabei beachtenswert, daß häufig dieselbe Form der malignen Geschwulst bei mehreren Exemplaren beobachtet wird, auch wenn sie sonst verhältnismäßig selten vorkommt. So fand Löb bei 3 Ratten des pathologischen Laboratoriums der Poliklinik von Chicago ein cystisches Sarkom der Schilddrüse und Borrell beobachtete bei Mäusen in einem Käfig während eines Jahres 5—6 Fälle von Epitheliom der Unterkiefergegend, während später diese Geschwulstform von ihm nicht mehr gesehen wurde. Hanau hat bei 3 Ratten im Züricher anatomischen Institut einen Hornkrebs in der Nähe der Sexualorgane gefunden. Besonders häufig sind es Endemien des Adenokarzinoms der alten weiblichen Mäuse, die von Borell, Löb, Michaelis, Busse, Gaylord, Koch, Tyzzer, Küster, Thorell, Ascher, v. Wasielewski und anderen beobachtet wurden. Gegen die Infektionstheorie sind verschiedene Momente angeführt worden. Selbstverständlich muß die Diagnose der malignen Geschwulst vollkommen gesichert sein. Dann ist das Alter zu beachten, das ja auf jeden Fall von Bedeutung ist. Bashford glaubt, daß das höhere Alter geradezu die Ursache für das gehäufte Auftreten des Mäusekrebses in manchen Züchtereien ist, Gaylord und Borell haben mit Recht dagegen eingewandt, daß es Käfige und Züchtereien gibt, die krebsfrei sind, obgleich sie auch alte Mäuse enthalten. Es muß ferner sichergestellt sein, daß man es auch wirklich mit Spontantumoren zu tun hat und daß nicht eine Verwechslung mit Impftumoren vorliegt. Diese Möglichkeit gilt vor allem für die interessante Endemie Thorells: unter 60 Mäusen traten im Lauf eines Jahres 14 Karzinome auf, und zwar nur bei weiblichen. Der Sitz des Tumors war wie gewöhnlich die Mammagegend. 12 von diesen Tieren waren vorher mit Mäusekrebs geimpft worden, ohne daß in der ersten Zeit ein Tumor entstand. Da Thorell aber am Schwanzende mit ganz kurzer Hauttasche geimpft hatte, so hält er es für



ausgeschlossen, daß die neuentstandenen Tumoren, die soweit entfernt von der Impfstelle auftraten, verspätet aufgetretene Transplantationstumoren gewesen sind. Zu beachten sind ferner die hereditären Verhältnisse. Löb, Koch, Busse, Küster, Thorell u. a. haben zur Erklärung an die Möglichkeit gedacht, daß durch fortgesetzte Inzucht eine Disposition entstehen kann, die allmählich gesteigert, plötzlich zur gehäuften Krebsentwicklung führt. Als auslösenden Reiz könnte man dann die chronische Mastitis der alten Mäuse auffassen. Haaland hat sie nachgewiesen und nimmt als Ursache hierfür Nematoden an. Bashford und Murray haben die Hereditätsfrage auch experimentell in Angriff genommen. Alle Mäuse wurden, sobald sie selbständig fressen konnten, isoliert und genau katalogisiert. Die Beobachtungen ergaben, daß trotz dieser Isolierung unter den Mäusen, die von krebskranken Mäusen abstammten, mehr Tumoren auftraten, auch wenn das Alter mitberücksichtigt wurde. Diese so genauen und sorgsamen Untersuchungen sind jedoch auch nicht ausreichend, um die Entscheidung zwischen Heredität und Infektion zu bringen, da eine Infektion ja in den ersten Lebenstagen schon erfolgen kann. Die Uebertragungsversuche durch einfaches Zusammenleben, die Haaland mit alten Mäusen vorgenommen hat, waren positiv, aber alte Mäuse erkranken häufig auch spontan. In den Versuchen von Ehrlich und Apolant, die jüngere Mäuse benutzten, traten dagegen keine Erkrankungen auf. Auch Thorell und andere berichten über negative Ergebnisse. Das endemische Vorkommen von maligner Struma bei Salmoniden, das zuerst von Pick beobachtet wurde, ist von Gaylord in Buffallo genau untersucht worden. Die Struma war in manchen Behältern endemisch; hier erkrankten auch Fische aus gesunden Distrikten. Die Tumoren traten nur auf, wenn die Tröge aus Holz gemacht waren, dagegen nicht in solchen aus Zement. Das mit solchem Holz verunreinigte Wasser rief auch bei Hunden Struma hervor, aber nicht mehr, wenn es gekocht war. Es handelt sich also um Entstehung von Struma durch ein im Wasser vorhandenes Agens ganz ähnlich wie bei den Versuchen Birchers und Carrisons, die durch Kropfwasser Struma bei Versuchstieren erzeugten. Die Struma wächst bei den Salmoniden aber häufig infiltrierend und macht gelegentlich auch Metastasen. Sie besitzt also alle charakteristischen Eigenschaften der bösartigen Tumoren. Man kann nun ja freilich auch hier einwenden, daß die ektogene Ursache nur die Struma erzeugt, während das Karzinom bei einzelnen Tieren auf dem Boden der Struma aus anderen endogenen Ursachen entsteht. Das Auftreten des malignen Wachstums ist aber doch so häufig, daß man das endogene Moment bei den meisten Tieren annehmen müßte.

Dieselben Schwierigkeiten, die bei den tierischen Endemien für die Beurteilung vorliegen, gelten noch mehr für die menschliche Statistik. Da keine sehr großen Ausschläge zu verzeichnen sind, sehr viel Fehlerquellen möglich, und der Zufall niemals ganz ausgeschlossen werden kann, solange die Statistik nicht über viel größere Zahlen als jetzt verfügt, so können die statistischen Erhebungen nur als Hilfswissenschaft gelten. Es ist aber doch bemerkenswert, daß die Resultate der wirklich einwandfrei durchgeführten Untersuchungen immer mehr darauf hinweisen, daß der Krebs endemisch gehäuft vorkommt, und seine Häufigkeit im wesentlichen von der Oertlichkeit abhängt, während hereditäre und andere Momente zurücktreten. Das gilt sowohl für größere Länderkomplexe wie in der Statistik von Kolb, noch mehr aber für ganz kleine Distrikte, wie durch einige Beobachtungen



von Bela, Sticker und anderen schon gezeigt wurde und durch die ausgezeichnete Statistik von Werner, soweit dies überhaupt durch Statistik möglich ist, erwiesen wurde. Werner fand auch die wichtige Tatsache, daß der Cancer à deux in den krebsreichen Gemeinden verhältnismäßig viel häufiger ist als in den krebsarmen und zwar unabhängig von der Verwandtschaft. Krebs kommt in allen Zonen und bei allen Rassen vor. Nach Bashford kommen die Karzinome des Magendarmkanals und der weiblichen Geschlechtsorgane in Indien unter den Hindus ungefähr ebenso häufig vor wie in England unter den Europäern. Hoden- und Peniskarzinom sind in Indien 10 mal häufiger. Für die Bedeutung der Reizwirkungen spricht es, daß bei den Betel kauenden Indierinnen Wangen-, Zungen- und Lippenkarzinom 6 mal häufiger beobachtet wurden als bei den englischen Frauen. In manchen tropischen Ländern scheint das Karzinom selten zu sein und von besonderem Interesse ist es, daß die Neger, welche nach den Aussagen der Missionsärzte in Afrika sehr selten erkranken, in Amerika nicht weniger als die Europäer vom Karzinom befallen sind. Die statistischen Beobachtungen sprechen demnach mehr für eine exogene als für eine endogene Ursache. Sichere Krebserreger sind noch nicht gefunden, obgleich viele Mikroorganismen als solche beschrieben worden sind. Die Plimmerschen Körperchen, die Leidenschen Vogelaugen sind nicht charakteristisch genug, um als Parasiten gelten zu können. Der *Micrococcus neophormans* von Doyen findet sich wohl häufig auch in abgeschlossenen Tumoren; die Angabe Doyens, daß man maligne Tumoren damit erzeugen könne, hat sich jedoch nicht bestätigt. Der Saccharomyces von San Felice und der Mukor von Schmidt sind nur ausnahmsweise aus Tumoren gezüchtet worden; maligne Tumoren in einigermaßen gesetzmäßiger Weise damit zu erzeugen, ist auch nicht geglückt. In den Karzinomen der Mäuse sind von Gaylord, Borell und Deetjen Spirochäten häufig gefunden worden. Ihre ätiologische Bedeutung ist nicht erwiesen. Sie lassen sich, wie Deetjen fand, im Unterhautbindegewebe auch bei gesunden Mäusen fortzüchten und finden sich auch bei geschwulstkranken Mäusen mehr in der Umgebung als im Tumor selbst.

Wenn man alles zusammenfaßt, muß man eingestehen, die Krebsfrage ist noch nicht gelöst; aber auf allen Gebieten mehren sich die Beobachtungen, die auf ektogene Ursachen hinweisen, unter denen wir in erster Linie an Mikroorganismen denken werden. Daneben sind viele biologisch wichtige Tatsachen bekannt geworden.

V. R. Kraus (Wien):

Karzinomzelle und Karzinomreaktionen.

Eine der wichtigsten Voraussetzungen jeder erfolgreichen Therapie bösartiger Geschwülste ist eine sichere und frühzeitige Diagnose. Eine Karzinomreaktion, welche imstande wäre mit absoluter Sicherheit und doch womöglich frühzeitig bösartige Erkrankungen zu erkennen, bedeutet schon eine teilweise Lösung der Probleme einer Karzinomtherapie.

Die symptomatische Medizin vermag dieses Postulat nicht zu erfüllen. Aber selbst der histologischen, der bis nun einzig exakten Diagnostik, sind



enge Grenzen gezogen, da sie bei internen Erkrankungen zumeist nicht in Betracht kommt. Und so sehen wir in den letzten Jahren Chemie und Biologie sich um die Lösung dieser Probleme bemühen. Die Suche nach einer Karzinomreaktion setzt aber unter anderem auch ein Verständnis für das Wesen der Geschwülste, Eigenschaften der Geschwulstzellen usw. voraus, so daß Fragen theoretischer Natur gleichzeitig eine Klärung erfahren haben. So ist eine Reihe neuer wichtiger Tatsachen, insbesondere über die biologisch-chemischen Eigenschaften der Geschwulstzellen quasi als Nebenprodukt gewonnen worden.

Dieser biologisch experimentellen Forschungsrichtung ist es auch zu danken, daß die in Stagnation geratene und in philosophischen Spekulationen zu erstarren drohende Karzinomforschung in neue fruchtbare Bahnen gelenkt und auf eine experimentelle biologisch-chemische Grundlage gestellt wurde.

I.

Die experimentellen Arbeiten der letzten Jahre haben unzweifelhaft erwiesen, daß das ätiologische Agens der Geschwülste nicht unter den gekannten Mikroorganismen zu suchen sei, sondern in der Geschwulstzelle selbst gelegen sein dürfte.

Diese jetzt allgemein zum Durchbruch gelangte Anschauung ist richtunggebend geworden für die weiteren Arbeiten. Ob nun die Karzinomzelle selbst als das ätiologische Agens anzusehen ist oder ob ein noch ungekanntes Virus parasitär in der Zelle die Ursache der pathogenetischen Proliferation ausmacht, ist, wie wir sehen werden, für die serobiologische Richtung irrelevant. Man ging daran nach dem Prinzip der bei Infektionskrankheiten bewährten serodiagnostischen Methoden auf serologischem Wege die Karzinomreaktion zu suchen.

Es galt zunächst die Frage zu entscheiden, ob die Karzinomzelle different von den Organzellen ist und ein spezifisches Antigen enthält, demnach imstande ist spezifische Antikörper im Organismus auszulösen. Forßner hat auf Grund mittels des von Weichardt und Liepmann für Synzytialzelleneiweiß angegebenen Absättigungsverfahren spezifische Organzellenpräzipitine für Nieren, Milz, Leber gewonnen. Auf Grund dieser vorliegenden Tatsachen dachte man daran mittels Karzinomzellen spezifische Karzinompräzipitine zu gewinnen um Karzinom diagnostizieren zu können. Engel und Mertens gingen von der Voraussetzung aus, daß im Serum Karzinomkranker ein spezifisches Antigen vorhanden sein dürfte und behandelten mit Karzinomserum Kaninchen um Präzipitine zu erzeugen. Weder Engel noch Mertens ist es aber gelungen ein spezifisches Karzinompräzipitin eindeutig nachzuweisen. Auch durch die Absättigungsversuche von Mertens ist ein spezifisches Präzipitin nicht erwiesen worden. Damit stimmen auch spätere Angaben von Salomon, Pribram überein, welche mittels Präzipitine einen Unterschied zwischen Serum Gesunder und Karzinomkranker nicht statuieren konnten.

Einen anderen Weg schlug Maragliano ein. Er hat mit Magensaft Karzinomkranker Kaninchen vorbehandelt und ein Präzipitin gewonnen, welches nur mit Magensaft Karzinomkranker präzipitiert hat. Von 17 Fällen von Magenkarzinom haben 16 positiv reagiert, von 25 anderen Magenerkrankungen und 8 Fällen von Gastritis reagierte kein Fall. Diese Befunde sind außer von Serafini und Dietz



leider bisher nicht weiter nachgeprüft worden. Serafini und Diez finden konform den Angaben Maraglianos öfters positive Resultate bei Karzinomkranken und negative bei Fällen anderweitig Magenkranker. Die Nachprüfung dieser Angaben Maraglianos wäre zunächst in praktischer Hinsicht sehr erwünscht, aber auch in theoretischer Richtung könnte sie manche Aufklärung bringen. Wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, ist es nicht gelungen mit Tumorzellen einwandfrei spezifische Karzinompräzipitine zu erzeugen. Wenn es nun mit dem Magensaft von Karzinomkranken gelingen soll Präzipitin spezifischer Natur zu erzeugen, wäre, wie bereits Paltauf in seinem Referat meint, zu erwägen, ob nicht etwa in Abbauprodukten des Eiweißes die Ursache für diese Präzipitine zu suchen wäre. Daß im Magensaft von Karzinomkranken Serumeiweiß vorhanden ist, wurde durch Salomon, Pribram, Citron mittels der Präzipitinreaktion nachgewiesen. Nachdem durch die Untersuchungen von Friedrich Müller und seiner Schüler Emerson, Neubauer und Fischer gezeigt worden ist, daß im Magensaft Karzinomkranker peptidspaltende Fermente vorkommen, wäre daran zu denken, daß aus dem Serumeiweiß Abbauprodukte entstehen, welche im Sinne von Obermayer und Pick ein anderes Antigen darstellen als das arteigene Serumeiweiß. Durch Immunisierung mit einem derartigen Magensaft dürften dann Präzipitine gewonnen werden, welchen eine Zustandsspezifität zukommen könnte und zur Diagnose des Magenkarzinoms sich eignen würden. Wie gesagt, müßten noch weitere Nachprüfungen diesbezüglich vorliegen, ehe ein definitives Urteil zu fällen ist. Jedenfalls ist dieser Weg, den Maragliano eingeschlagen hat, aussichtsreich.

Der hier vorgebrachten Auffassung dürfte auch die Tatsache nicht widersprechen, daß es weder Kullmann, noch Ranzi gelungen ist durch Behandlung von Karzinomzellen bei Kaninchen spezifische Präzipitine zu erzeugen. Die Versuche von Ranzi wurden mit 8 Karzinomen und 8 Sarkomen ausgeführt. Das Serum derart vorbehandelter Kaninchen präzipitierte nicht nur Extrakte aus Tumoren, sondern auch solche aus normalen Organen und auch normales Serum, es konnten aber auch keine quantitativen Differenzen nachgewiesen werden. Ein mit normalem Menschserum gewonnenes Präzipitin, welches als Kontrolle herangezogen wurde, gab ganz die gleichen Resultate. Die bereits von Mertens versuchte Absättigungsmethode fiel ebenfalls negativ aus. Mittels der Methode der Komplementablenkung erhielt Ranzi ganz gleichlautende Resultate. Es geht also aus diesen Versuchen hervor, daß es nicht gelungen ist mit Tumorzellen spezifische Antikörper gekannter Art zu erzeugen. Auch in weiteren Versuchen, bei Heranziehung der anaphylaktischen Reaktion, konnte Ranzi mit Organ- und Tumorzellen keine Unterschiede ermitteln. Besonders wichtig für die hier diskutierte Frage sind diejenigen Versuche Ranzis, welche an Menschen und Affen ausgeführt wurden. Den Ausgangspunkt für diese Versuche bildet die Tatsache, daß die Gewinnung von Isoantikörpern ungleich schwerer gelingt als die der Heteroantikörper, namentlich ist es schwer Isopräzipitine zu erzeugen. Würde die Tumorzelle artfremde Antigene enthalten, wie es sich z. B. in extremer Weise Kelling vorstellt, müßten bei Vorbehandlung von Mensch oder Affe viel eher Antikörper zu erwarten sein, als wenn bloß arteigene Antigene, wie sie den Organzellen zukommen, vorhanden wären.

Ranzi hat zunächst Affen mit menschlichen Tumoren vorbehandelt,



und gefunden, daß bei Affen keine Präzipitine gebildet werden. Ausschlaggebend ist aber der Versuch am Menschen. Zwei karzinomkranke Menschen wurden zu therapeutischen Zwecken mit Karzinomextrakt vorbehandelt und deren Serum nachher auf Präzipitine untersucht. Das Resultat war ein völlig negatives. Von ähnlichen Erwägungen ausgehend, hat v. Dungern Kaninchen mit Hasensarkomen, einen Fuchs mit Hundesarkom vorbehandelt. In den Versuchen mit Hasensarkomen läßt es v. Dungern unentschieden, ob spezifische Antikörper entstehen. Beim Fuchs konnten nach Vorbehandlung mit dem Hundesarkom außer Hämolysinen für Hundeblutkörperchen andere Antigene nicht nachgewiesen werden. Jedenfalls sprechen alle Versuche dafür, daß nach Vorbehandlung mit Tumorzellen spezifische Antikörper wie Präzipitine, komplementbindende Substanzen nicht gebildet werden dürften.

Auch diejenigen Versuche, welche darauf ausgingen, im Serum aktiv vorbehandelter Tiere und im Serum gegen Reinfektion immuner Tumorträger Schutz- und Heilkörper nachzuweisen, sind resultatlos geblieben. Aus dem Vorangehenden würde zunächst die wichtigste Tatsache sich ergeben, daß die Tumorzellen gleiche Antigene enthalten wie normale Organzellen und weder quantatitive noch qualitative Unterschiede feststellbar sind.

Bevor wir zur Besprechung der Frage nach dem Vorkommen von Antikörpern und Reaginen im Serum Karzinomkranker übergehen, seien noch Versuche besprochen, welche ebenfalls von der Voraussetzung ausgehen, daß die Karzinomzelle wie ein Erreger einer Infektionskrankheit sich verhalte, eine spezifische Antikörperbildung und eine allergische spezifische Reaktionsfähigkeit des Organismus bedinge.

v. Dungern hat mit Gorowitz Angaben gemacht, daß der Karzinomkranke auf Injektion von abgetötetem Tumorgewebe mit lokalem Oedem allergisch reagiere. Ranzi, Ravenna haben nur negative Resultate zu verzeichnen. Mit den letzteren Angaben würde auch in Uebereinstimmung stehen, daß ein anaphylaktischer Reaktionskörper bei Karzinomkranken nicht nachgewiesen werden konnte. Ob die von v. Dungern beobachtete Ueberempfindlichkeitsreaktion bei Hasenkarzinom hierher zu rechnen wäre, ist unentschieden, da nach Apolant diese Geschwülste eine Sonderstellung einnehmen. Es wäre hier noch die von Elsberg angegebene Reaktion zu besprechen. Mit defibrinierten 10 proz. Menschenblut subkutan injizierte Karzinomkranke sollen in 2—8 Stunden mit lokaler Schwellung und Verfärbung reagieren. Diese Reaktion hat in der Hand des Entdeckers 100 Proz. positive bei Tumorkranken und nur 3 Proz. bei Kontrollfällen ergeben. Andere Autoren waren bei der Nachprüfung weniger glücklich. Warfield hat 32,4 Proz. positive Befunde bei Kontrollfällen, Krida 8 Proz., Pinkus, v. Graff haben negative Resultate.

Diese Versuche sind jedenfalls nicht geeignet eine spezifische Ueberempfindlichkeit Karzinomkranker zu erweisen.

II.

Die ergebnislosen Bemühungen spezifische Antikörper für Tumorzellen zu gewinnen, ließen es a priori nicht wahrscheinlich erscheinen, daß im Serum bei der natürlichen Erkrankung Antikörper wie Präzipitine, Cytolysine oder



anaphylaktische Reaktionskörper in nachweisbarer Menge vorhanden sein dürften.

Mit Rücksicht auf die in der letzten Zeit veröffentlichten ausführlichen Referate von Witte, Wolfsohn, Hirschfeld, Herrenschmidt, Ranzi, Paltauf, Weinberg und Mello möchte ich mich gerade über dieses Kapitel kurz fassen.

Den Angaben von Kelling über Hämolysine für tierische Blutkörperchen verhalten sich v. Dungern und Fuld ablehnend, da sie nur negative Resultate verzeichnen. Die Einwände v. Dungerns über die Methodik Kellings dürften durchaus berechtigt sein und gelten auch den bestätigenden Arbeiten von Rosenbaum, Paus, Widerol.

Die von Pfeiffer und Finsterer in Serum Karzinomkranker nachgewiesenen anaphylaktischen Antikörper wurden bei den Nachprüfungen durch Elias, Ranzi, Kelling, Weinberg u. a. nicht bestätigt.

Trotzdem in der Literatur Angaben vorlagen (M. Ascoli, Camus und Pagnez, Eisenberg, Bezzola), daß Isolysine bei Erkrankungen verschiedenster Art vorkommen, hat Crile doch noch einmal den Versuch unternommen die Frage der Isolysine zu überprüfen. Konform den Angaben früherer Autoren findet auch Crile bei Gesunden keine Isolysine. Im Gegensatz aber zu den früheren Untersuchern ergeben 103 Fälle verschiedener Erkrankungen ebenfalls nur negative Resultate. Ueberraschende Resultate hat Crile über den Gehalt an Isolysinen im Serum Karzinomkranker, indem er 85—93 Proz. positive Befunde erhoben haben will. Allerdings erfährt dieser Befund dadurch eine wesentliche Einschränkung, daß bei Infektionskrankheiten in ca. 10 Proz. und bei Tuberkulose in 93 Proz. ebenfalls Isolysine im Serum enthalten sind (s. Tab. I). Bei der Nachprüfung der Angaben von Crile finden Upcolt, Alessandri fast gleiche Resultate. Demgegenüber hat Krida und Agazzi 8 Proz. positive Resultate bei anderen Erkrankungen, Whitemore sogar 17 Proz. Auch darin divergieren die Angaben der Nachprüfer, daß die Zahl der positiven Befunde bei Tumoren viel geringer ist als sie Crile und Johnstone angeben. So verzeichnet u. a. Richartz bloß 46 Proz., Weinberg und Mello 29 Proz., Agazzi 38,7 Proz., Burger 44,4 Proz. positive Befunde bei Karzinom. Crile glaubt zwar, daß der Nachweis der Isolysine eine differentialdiagnostische Bedeutung haben dürfte, namentlich in den Frühstadien, welche bessere Resultate geben sollen als Späterkrankungen. Mit Rücksicht aber darauf, daß auch Infektionskrankheiten, namentlich aber Tuberkulose über 90 Proz. und progressive Anämie (Richartz) positive Befunde ergeben und andersartige Erkrankungen nach Angabe einzelner Autoren in 8—17 Proz. ebenfalls positiv reagieren, dürfte dieser Reaktion kein besonderer differentialdiagnostischer Wert zuerkannt werden (Tab. I).

Bei dieser Gelegenheit sei der Standpunkt präzisiert, welcher einzig und allein maßgebend sein darf für die Brauchbarkeit einer Karzinomreaktion. Bei dem Stande unserer derzeitigen Therapie kann der Ausfall der Karzinomreaktion entscheidend sein, ob ein operativer Eingriff vorgenommen werden soll oder nicht. Es muß also die Reaktion derart exakt sein, daß ein **positiver Ausfall einen Tumor anzeigt und als Indikation für die Operation angenommen werden kann. Selbst wenn die Reaktion nur 50 Proz. positiver Befunde geben würde, muß sie als praktisch brauchbar bezeichnet werden, wenn gesunde und andersartige Erkrankungen nur negative Reaktion geben. Eine Reaktion aber, welche auch bei andersartigen Erkran-**



Tabelle I.

Autor	Tumoren			Gesunde u. andere Erkrankungen			Tuberkulose und andere Infektionskrankheiten		
	Zahl	+%	—	Zahl	+%	—	Zahl	+%	—
Crile	153	85		211 55 11 37		100 100 100 100	52 71	93 10	
Richartz	73	46		112		100	11	27 52	
Upcolt	34	50,25		10		100	40	52	
Alessandri	34	64,7		59		100			
Johnstone u. Caning	51	88,3		85	4,7				
Krida	16	56,3		25	8				
Agazzi	31	38,7		68	8,8				
Whithmore	22	31,8		39	17,18				
	414	66,4		712	2,7		174	45	

kungen positive Befunde geben kann, verliert begreiflicherweise ihre praktische Bedeutung.

Nach diesen allgemeinen Erörterungen müssen wir also sagen, daß die Isolysinreaktion den Anforderungen, welche an eine brauchbare Karzinomreaktion gestellt werden, nicht entspricht. Gleiches gilt auch von der Antitrypsinreaktion nach Brieger und Trebing. Die Feststellungen von Hahn, Fermi, Jochmann und Müller über die hemmende Wirkung des normalen Serums gegenüber proteolytischen Fermenten, und diejenigen von Ascoli und Bezzola, Kolaczek, Bitroff, über die Vermehrung der antitryptischen Eigenschaft des Blutserums bei Krankheiten bilden den Ausgangspunkt für die Antitrypsinreaktion nach Brieger und Trebing. Diese Autoren finden mit der Methode von Marcus auf Löfflers Blutserumplatten eine Erhöhung der antitryptischen Eigenschaft des Blutserums bei Karzinom und erheben 90 Proz. positive Befunde. Gleichzeitig machen Brieger und Trebing darauf aufmerksam, daß auch bei anderen Krankheiten die mit Kachexie einhergehen, die Reaktion positiv ausfallen (13 Proz.) kann. Im Hinblick darauf, daß Brieger und Trebing in ihrer ersten Arbeit diese Reaktion als eine diagnostische Karzinomreaktion empfohlen haben, haben eine Reihe Autoren dieselbe einer Nachprüfung unterzogen. Das Resultat dieser Arbeiten verneint die Brauchbarkeit dieser Methode für diagnostische Zwecke. Die positiven Befunde, welche bei andersartigen Erkrankungen von Bergmann und Meyer in 24 Proz., Braunstein in 27,7 Proz., Winogradow in 34,8 Proz., Yamanouchi in 50 Proz. u. a. erhoben wurden, machen den diagnostischen Wert zweifelhaft (s. Tab. II).

Wenn auch den eben besprochenen Reaktionen ein praktischer Wert nicht zugesprochen werden kann, sind sie doch nicht ganz bedeutungslos. Diese Untersuchungen haben Eigenschaften des Serums bei Karzinom,



Tabelle II.

Autor	Tumoren			Gesunde u. andere Erkrankungen		
	Zahl	+%	—	Zahl	+%	—
Brieger und Trebing	35 55	85,87 100			13,9	
v. Bergmann und Meyer . . .	20	92,7			24	
Braunstein	24	91,7			27,7	
Winogradow	23	91,3			34,8	
Poggenpohl	14	92,8		64	10,9	
Yamanouchi				34	50	
Zadro	30	86,6		19	26	
Clowes	60	100		60	10	
	261	94,2		177	19,7	

Tuberkulose aufgedeckt, welche mittels chemischer Methoden nicht erkannt worden wären.

Bisher hat die serobiologische Forschung mit dem Nachweis der Antikörper bloß diagnostische Zwecke verfolgt, nach dem Vorangehenden hat es aber den Anschein, als ob sie auch berufen wäre eine analytische Bedeutung zu erlangen und Anhaltspunkte für intime Stoffwechselvorgänge zu liefern imstande wäre.

Diese hier vorgebrachten Tatsachen über den Gehalt an Isolysinen, Antitrypsin im Serum Tuberkuloser und Karzinomkranker, sowie die experimentellen Ergebnisse der Erzeugung erhöhter antitryptischer Eigenschaften des Serums hungernder Tiere (Herzfeld, Fürst) bei Phosphorvergiftung (Braunstein) scheinen darauf hinzudeuten, daß die Entstehung dieser Körper eher durch abnorme Stoffwechselvorgänge des Eiweiß- und Lipoidstoffwechsels zustande kommen dürfte als durch bestimmte Antigene. Diese Vermutung dürfte durch die noch zu besprechenden Reaktionen gestützt werden und die Annahme berechtigt erscheinen lassen, daß diese Reaktionen nicht im Sinne der gekannten Antigen-Antikörperreaktionen aufzufassen sein dürften.

Zunächst ist es die sog. Kobragiftreaktion d. h. die Erhöhung der aktivierenden Kraft des Serums bei Tuberkulose, Karzinom und Graviden, welche für diese Auffassung spricht. Calmette hat gefunden, daß Serum Tuberkuloser Kobragift in erhöhtem Maße zu aktivieren vermag und hoffte eine Reaktion für Tuberkulose gefunden zu haben. Bauer und Lehndorf, Heynemann fanden auch das Serum gravider Frauen ebenso stark aktivierend.

Der in chemisch und biologischer Richtung mehrfach gefundene Parallelismus im Verhalten des Stoffwechsels Gravider und Karzinomkranker (Falk, Saxl und Salomon, Falk und Hesky, Novak und Porges)



führte mich in Gemeinschaft mit v. Graff und Ranzi dazu, das Serum Karzinomkranker in der Richtung zu untersuchen. Es ergab sich hierbei, daß ca. 80 Proz. positive Befunde bei Karzinom ermittelt wurden, bei andersartigen Erkrankungen ca. 40 Proz. Damit ist über die Brauchbarkeit dieser Reaktion das Urteil gesprochen worden. Auch diese Reaktion ist als diagnostische Methode nicht verwertbar. (Heynemann und v. Graff und v. Zubrzycki kamen zu gleichen Resultaten.) Immerhin entbehrt auch diese Reaktion nicht des Interesses, insoferne ein Parallelismus im biologischen Verhalten des Serums der Tuberkulösen, der Graviden und Karzinomkranken feststellbar ist. Auch ist die Tatsache zunächst als interessant zu registrieren, daß Fälle nach der Operation, die rezidivfrei sind, trotzdem eine positive Kobragiftreaktion geben. Die Antitrypsinreaktion verschwindet nach der Operation und ist nach Pinkus gerade ein Indikator für Rezidivfreiheit, da bei Rezidiv der erhöhte Titer vorhanden ist.

Im Zusammenhang mit diesen nicht spezifischen Reaktionen wäre noch ein Wort über die Resistenz der Blutkörperchen bei Karzinomkranken gegenüber Serumhämolysin und Kobragift zu erwähnen. Es hat R. Weil zunächst im Experiment gezeigt, daß Serum von lymphosarkomatosen Hunden Blutkörperchen normaler Hunde, nicht aber Blutkörperchen der Tumorhunde löst. Crile hat dann gefunden, daß die Blutkörperchen Karzinomatöser gegen normales Serum resistenter sind, ebenso wie Blutkörperchen Tuberkulöser. Dieser Befund findet in den Untersuchungen von Weil, Richartz, Binger seine Bestätigung. In Uebereinstimmung mit diesen Angaben über Resistenz der Blutkörperchen Karzinomkranker gegenüber den Hämolysinen des normalen Serums lassen sich die Resultate bringen, welche ich in Gemeinschaft mit Ranzi, Pötzl und Ehrlich ermittelt habe. Kyes und Sachs waren die ersten, welche die Empfindlichkeit roter Blutkörperchen bei verschiedenen Krankheiten gegenüber Kobragift geprüft haben. Much und Holzmann haben eine erhöhte Empfindlichkeit der Blutkörperchen gegen Kobragift bei Psychosen gefunden. In unseren Untersuchungen konnten wir zunächst im Experiment nachweisen, daß bei mit Spirochäten und Trypanosomen infizierten Mäusen und Ratten eine erhöhte Empfindlichkeit der Blutkörperchen vorhanden ist. Auch die Blutkörperchen der Sarkomratten zeigten gleiches Verhalten. Im Gegensatz dazu waren die Blutkörperchen der Karzinommäuse resistenter. Und auch für die menschlichen Blutkörperchen ließ sich Aehnliches nachweisen. In 78 Proz. der malignen Tumoren haben sich die Blutkörperchen gegenüber Kobragift anders verhalten als normale. Bei Karzinom war eine Verzögerung der Hämolyse nachweisbar, bei Sarkom sowohl Verzögerung als auch Beschleunigung. Ebenso konnte auch R. Weil, später Kuschakoff und auch wir bei Syphilis eine erhöhte Resistenz der Blutkörperchen finden. Für die Syphilis hat Kuschakoff den diagnostischen Wert dieser Reaktion, der ihr von Weil zugesprochen wird, bestritten. Ob diese Reaktion für die Karzinomdiagnose zu verwerten wäre ist ebenfalls sehr fraglich, da bei der großen Verbreitung der Syphilis und der großen Prozentzahl positiver Befunde (78,3 Proz.) erst eine Differentialdiagnose mittels Wassermannscher Reaktion vorausgehen müßte und bei negativem Ausfall gar keine Entscheidung bringen würde. Der schon früher erwähnte Parallelismus im biologischen Verhalten des Blutserums Gravider und Karzinomatöser bei der Kobragifthämolyse hat v. Graff und v. Zubrzycki Veranlassung gegeben die Resistenz der Blutkörperchen der Graviden und Föten zu prüfen. Es ergab sich, daß die Plazentarblut-



körperchen ebenso wie die Blutkörperchen Karzinomkranker resistenter sind als normale.

Diese Untersuchungen, sowie auch die noch zu besprechende Freund-Kaminer Zellreaktion zeigen, was auch auf chemischem Wege ermittelt werden konnte, daß Stoffwechselvorgänge bei Karzinom und Gravidität gewisse Beziehungen zueinander haben dürften.

III.

Die Mißerfolge aller dieser Bestrebungen einerseits, andererseits auch die festgestellte Reaktionsbreite des Serums Karzinomkranker führten dazu, daß auch noch weitere serobiologische Methoden in Anwendung gezogen wurden. Die mit so großem Erfolg bei der Syphilis erprobte Wassermannsche Reaktion der Komplementablenkung wurde von verschiedenen Autoren zunächst mit negativem Resultat bei Karzinom versucht (v. Bergmann und Keuthe, Ranzi u. a.). Spätere Untersuchungen aber von Ravenna, Sampietro und Tesa, Simon und Walter, Sisto und Jona und die in letzter Zeit von v. Dungern ausgeführten dürften bessere Ergebnisse liefern (s. Tab. III). Der Extrakt wurde aus Tumoren als wässeriger oder alkoholischer Extrakt gewonnen. Was zunächst die Zahl der positiven Befunde bei Karzinom betrifft, wurden von Sampietro und Tesa 64,8 Proz., Simon und Walter 65 Proz., Sisto und Jona 76,6 Proz., Leschke 93 Proz. und v. Dungern 100 Proz. erhoben. Die Zahl der positiven Befunde bei anderen Erkrankungen beträgt bei 100 untersuchten Fällen nach Sampietro und Tesa 3 Proz., bei 53 Fällen nach Simon und Walter 3,8 Proz. von 116 Fällen, Leschke gibt 10 Proz. an. Die Hälfte der Fälle betrifft Syphilitiker. v. Dungern hat 67 Fälle, darunter Tuberkulose (18) Scarlatina (5), Diphtherie (4) und andere Erkrankungen untersucht und nur 1,5 Proz. positive Befunde erhoben. Leschke und de Marchis haben mit Tumorextrakt bei Syphilis mehr positive Befunde als bei anderen Erkrankungen erhalten. v. Dungern findet bei Syphilis auch positive Reaktionen, und zwar beim Primäraffekt, Arterienerkrankung und Gummen, nicht bei Paralyse und Tabes. v. Dungern kommt dennoch zu dem Schluß, daß bei Verwendung mehrerer Extrakte und des unerwärmten Serum die Komplementablenkungsreaktion eine Geschwulsterkrankung sicher anzeigt, wenn Syphilis ausgeschlossen wird. Nach v. Dungern reagieren Karzinomsera nicht mit der Methode von Wassermann (Herzextrakt). In einer neueren Arbeit benützt v. Dungern statt wässeriger bzw. alkoholischer Extrakte aus Tumoren Acetonextrakte aus Tumoren und Blutkörperchen. Zur Sicherung der Reaktion empfiehlt v. Dungern einen Zusatz von 0,2 n/50 NaOH, wodurch bei Karzinomserum die Komplementablenkung nicht weiter gestört wird, wohl aber Hemmungen mit anderen Seris aufgehoben werden. In dieser Arbeit hat v. Dungern in 100 Fällen von Karzinom 93 Proz. positive Befunde. Von anderen benignen Geschwülsten wie Fibromen, Cysten, Myomen, reagierte kein Fall, bloß eine Lipomatose. 200 andere Fälle verschiedenartiger Erkrankungen gaben nur in 2 Proz. positive Reaktion. In guter Uebereinstimmung mit diesen Angaben stehen diejenigen von Livierato, welcher den Magensaft bei Magenkarzinom an Stelle des Serums nimmt und mit Tumorextrakt (Mamma) die Komplementbindung vornimmt. 8 Fälle von Magenkarzinom reagierten 7 mal positiv und 6 Kontrollfälle (Magenaffektionen) negativ. Die oben schon besprochenen Versuche Maraglianos mit Magensaft, welche weiteren Nachprüfungen empfohlen wurden, finden



durch die Befunde Livieratos eine weitere Stütze. — Die Methode der Komplementablenkung dürfte namentlich durch die v. Dungern ausgearbeitete Methodik als Karzinomreaktion einen diagnostischen Wert erlangen. Die Bedingungen, welchen eine klinisch verwertbare Karzinomreaktion entsprechen soll, scheinen bei dieser Reaktion erfüllt zu sein, Es reagieren Tumorfälle positiv, gesunde und andere Erkrankungen negativ. Die positiv reagierende Syphilis läßt sich durch eine vorausgegangene Untersuchung nach Wassermann ausschließen.

Tabelle III.

Autor	Tumoren			Gesunde u. andere Erkrankungen			Syphilis		
	Zahl	+%	—	Zahl	+%	—	Zahl	+%	—
v. Dungern	41	100		67	1,5		13	8	
Sampietro u. Tesa . . .	37	64,8		100	3				
Simon u. Walter	37	65		53	3,8				
Leschke	42	93		116	10				
	157	81,5		336	5,3				

Auch die folgende Reaktion dürfte allem Anscheine nach als Karzinomreaktion einen diagnostischen Wert besitzen. Weichardt hat zunächst gezeigt, daß die Mischung Toxin und Antitoxin bestimmte physikalische Veränderungen bedingt, wodurch eine Diffusionsbeschleunigung zustande kommt. Ascoli ging ebenfalls von der Vorstellung aus, daß im Gemisch Antigen und Antikörper physikalische Veränderungen vor sich gehen müssen und versuchte dieselben mittels Messung der Oberflächenspannung nachzuweisen. Die Versuche wurden mittels des Stalagmometers von Traube ausgeführt und zeigten tatsächlich, daß Antigen- und Antikörpergemische, Typhusserum und Typhusbazillenextrakt, Syphilis und Extrakt, Serum von Echinokokkenerkrankung und Echinokokokkenextrakt zum Unterschied von normalem Serum durch Herabsetzung der Oberflächenspannung eine erhöhte Tropfenzahl ergeben. Ascoli nannte diese Reaktion Meiostagminreaktion von *μίων*, weniger *στάξω*, tropfen. Ein besonderes Interesse erweckte diese Reaktion, als Ascoli und Izar ihre Verwertbarkeit für die Karzinomdiagnose mitgeteilt haben. Die Mischung des alkoholischen Tumorextraktes und des verdünnten Karzinomserums ergab eine Erhöhung der Tropfenzahl von 2 und mehr Tropfen gegenüber der Mischung des Extraktes mit Normalserum und Serum anderer Erkrankungen. Aus der Erhöhung der Tropfenzahl mindest um 2 Tropfen macht Ascoli die Diagnose des Karzinoms. Anfangs hielt Ascoli diese Reaktion für analog derjenigen mit Bakterienextrakten und Serum bei Typhus, Tuberkulose. Er faßte sie als eine Antigen-Antikörperreaktion auf. Später aber als Micheli und Cattoretti dieselben Resultate mit Extrakten aus Hundepankreas erhielten, ließ Ascoli die ursprüngliche Annahme fallen. Wichtig für den Ausfall der Reaktion ist die genaue Bereitung und Einstellung des Extraktes nach den Angaben Ascolis. Leider haftet den Extrakten der große Nachteil an, daß sie äußerst labil sind, da schon kleine Erschütte-



rungen genügen, um sie unbrauchbar zu machen. Die Labilität der Extrakte ist derzeit für die Verbreitung der Reaktion ein Hindernis. Die Resultate, welche Ascoli und Izar, Stabilini, Micheli und Cattoretti, d'Este, Verson, Tedesko mit dieser Reaktion gewonnen haben, sind derartige,

Tabelle IV.

Autor	Tumoren			Gesunde u. andere Erkrankungen		
	Zahl	+%	—%	Zahl	+%	—%
Ascoli und Izar	100	93	7	103	0,97	99,03
D'Este	12	91,7	8,3	18	0	100
Micheli und Catoretti	18	87,5	12,5	19	0	100
Agostini	27	85,2	14,8	27	0	100
Stabilini	32	93,8	6,2	27	0	100
Verson	18	55,5	44,5	6	0	100
Tedesko	27	96,3	3,7	33	6	94
Stamler	120	73	17	230	20	80
Kelling	45	47	53	85	3,5	96,5
Summe	399	82,8	17,2	548	9.5	90,5

daß der diagnostische Wert nicht anzuzweifeln sein dürfte (s. Tab. IV). Die italienischen Autoren finden nur bei bösartigen Tumoren eine positive Reaktion, fast negative bei benignen Tumoren und anderen Erkrankungen. Es würde demnach die positive Reaktion eine Diagnose eines bösartigen Tumors bedeuten. Stammler, welcher außer Tedesko als einziger in Deutschland die Reaktion einer eingehenden Nachprüfung unterzogen hat, findet zwar nur 73 Proz. positive Befunde bei Tumoren, aber auch andere Erkrankungen (230 Fälle) reagieren in 20 Proz. positiv. Unter den positiv reagierenden sind Fälle von Infektionen, Tabes (107), Hernie, Diabetes, Varicen, Knochenbruch, Prostatahypertrophie (57). Diese Differenz zwischen den Resultaten Stammlers in bezug auf andere Erkrankungen und den italienischen Autoren, ist vorderhand nicht aufgeklärt. Auf Grund unserer Erfahrungen (v. Graff und Ranzi) würden wir in der Labilität der Organextrakte die Ursache hierfür suchen. Gerade diese Inkonstanz, welche die Reaktion sehr nachteilig beeinflußt, ließ einen Ersatz wünschenswert erscheinen. Auf meine Veranlassung hin haben die Herren Dr. Luger und Dr. Köhler in dieser Richtung Versuche angestellt und zunächst statt Organextrakten eine wässerige Lecithinemulsion benutzt. Wenn auch diese Versuche noch nicht abgeschlossen sind, liefern sie schon jetzt brauchbare Resultate, die hier in Kürze wiedergegeben werden sollen (Wiener kl. Wochenschr. 1912 No. 29). Die Versuchsanordnung ist genau dieselbe, wie sie Ascoli für Organextrakt angibt. Es wurden sie Sera sowohl mit der für die Meiostagminreaktion angegebenen Extrakte als auch mit der Lecithinemulsion gleichzeitig untersucht, wobei sich Folgendes ergab:

119 Sera
27 Karzinome
70 andere Krankheiten
22 Gesunde

	positiv %	negativ %
Karzinome	77,8	22,2
andere Krankheiten	2,8	97,2
Gesunde	0	100



Danach verspricht diese Modifikation eine Verbesserung der Meiostagminreaktion zu werden.

Jedenfalls sind bei der Wichtigkeit dieser Reaktion weitere Nachprüfungen dringend notwendig. Würde es sich aber bestätigen, daß die Reaktion, wie sie Ascoli angibt oder in der besprochenen Modifikation so günstige Resultate liefert, dann würde dieser Reaktion eine klinische Bedeutung zukommen.

Im vorangehenden wurde die Frage erörtert, ob die hier besprochenen Reaktionen als Antigen-Antikörperreaktionen im Sinne der bekannten Immunitätsreaktionen anzusehen wären. Es wurde die Vermutung ausgesprochen, daß Aenderungen des Stoffwechsels bestimmter Art als Ursache für die andersartige Reaktionsfähigkeit des Serums angesehen werden konnten. Die zuletzt besprochenen Reaktionen, die Komplementbindungs- und Meiostagminreaktion, welche mit Alkohol und Acetonextrakten aus Blutkörperchen und normalen Organen so spezifische Befunde liefern, sind geeignet diese Vorstellung besonders zu stützen. Hiermit sind diese Reaktionen der Wassermannschen bei der Syphilis sehr nahe gerückt und die Lösung zum Verständnis der letzteren würde auch die der Karzinomreaktionen wesentlich fördern.

IV.

Trotzdem es nicht gelingen wollte auf immunisatorischem Wege die Karzinomzelle von den normalen Organzellen zu unterscheiden, könnten vielleicht auf Grund chemischbiologischer Untersuchungen dennoch Unterschiede angenommen werden. Es sei nur daran erinnert, daß die Arbeiten von Petry, Blumenthal und Neuberg, Bergell und Wolff, Abderhalden im Tumorgewebe autolytische und heterolytische Fermente in gesteigerter Menge nachgewiesen haben. Vielleicht sind es gerade diese Fermente, welche die eigenartige Reaktionsfähigkeit des Karzinomserums ausmachen. In Berücksichtigung der von Abderhalden gefundenen Tatsachen wäre auch diese Möglichkeit zu erwägen. Wolff konnte im Krebsgewebe mehr Albumine als Globuline und andere Eiweißkörper, welche in anderen Zellen nicht vorhanden sind, konstatieren. von den Velden weist auf eine gesteigerte Affinität der Karzinomzellen beim Menschen gegen Jod hin und Takemura bestätigt diese Befunde an tierischen Tumoren. Auch für das Arsen hat Blumenthal eine Tropie zu neoplastischen Gewebskomplexen nachgewiesen. In jüngster Zeit haben Freund und Kaminer ein besonderes Selektionsvermögen des Karzinom- und Sarkomgewebes nachgewiesen. Während normale Organe kein spezifisches Selektionsvermögen aufweisen, vermag Karzinomgewebe Zucker, Lecithin, Nuklein und Sarkomgewebe Pepton und Nuklein aus dem Gemisch zu adsorbieren. Außerdem besitzen die Karzinomzellen Zerstörungsvermögen für Glykogen. Diese Angaben und solche über die Verschiedenheit der Tumorzellen gegenüber physikalischen und chemischen Reizen sind doch der Ausdruck biologischchemischer Unterschiede zwischen normalen und Geschwulstzellen. Einen weiteren Anhaltspunkt für eine solche Verschiedenheit bringt die Zellreaktion nach Freund und Kaminer. Freund und Kaminer konnten zeigen, daß die Karzinomzelle vom normalen Serum gelöst wird, nicht aber normale Organzellen. Dem Serum Karzinomkranker fehlt diese Eigenschaft.

Ein besonderes Interesse kommt dieser Zellreaktion deswegen zu, weil Freund und Kaminer aus dem Mangel der Lösungsfähigkeit eines Serums,



die gerade für das Serum Karzinomkranker charakteristisch sein soll, eine Diagnose auf Karzinom machen, Nach Freund und Kaminer beruht diese Reaktion darauf, daß normales Serum eine zellzerstörende Substanz enthält, welche im Serum der Krebskranken fehlt. Außerdem konnten sie durch Mischungsversuche im Karzinomserum eine zellschützende Substanz nachweisen. Was die Verwertbarkeit der Reaktion betrifft, haben Freund und Kaminer in ihrer ersten Arbeit in 17 Karzinomseris 17 mal das Fehlen der Zellösung, und in 17 Fällen anderer Erkrankungen eine solche nur 2 mal konstatieren können. In einer späteren Arbeit haben sie 12 Proz. Fehldiagnosen mitgeteilt. Fälle von Tuberkulosis peritonei Cholelithiasis, Cirrhosen, Haemorrhagia intestini reagierten sowie Serum Karzinomkranker. Arzt, ein Schüler Freunds hat bei 43 Karzinomfällen 100 Proz. und bei 16 Kontrollfällen 11,7 Proz. positive Befunde, Stammler hat 80 Proz. positive Resultate bei Karzinom (s. Tab. V).

Tabelle V.

Autor		Tumoren							Gesunde u. a. Erkrankungen					
		Zell		Trüb.		Beide R.			Zell		Trüb.		Beide R.	
	Zahl	+%	—%	+%	—%	+%	—%	Zahl	+%	—%	+%	—%	+%	—%
Freund und	17	88,3	11,7					17	11,7	88,3				
Kaminer . . .	28					92,9	7,1	74					12,2	87,8
	43			93,1	6,9			26			3,8	96,2		
Arzt	43	100						16	11,7	88,3				
	17	100		88,3	11,7			16	31,2	68,8	31,2	68,8		
Stamler . . .	?	80												
Monakow . . .	15	86	14					52	25 9,2?	65,8				
Ranzi und Amiradzibi . .	7	71,7	28,3					15	13,3	86,7				
Kraus v. Graff und Ranzi . .	28	71,4 3,5?	25,1					39	15,3 23,5?	61,2				
Zell	155	90,3	9,7					229	25,5	74,5				
Trüb.	88			92	8			116			12,9	87,1		
Beide R. . . .	28					92,9	7,1	74					12,2	87,8

Monakow ist im Institute von Schmorl zu dem Resultate gekommen, daß aus dem Ausfall dieser Reaktion kein Schluß auf Karzinom gemacht werden kann. Die ablehnende Haltung Monakows ergibt sich hauptsächlich daraus, daß 1/4 der normalen Sera sich wie Karzinomsera verhalten. Ewing und Clowes haben ebenfalls mit Serum Gesunder positive Reaktionen erhalten. Die Untersuchungen, welche ich in Gemeinschaft mit v. Graff und Ranzi ausgeführt habe, fielen auch nicht zugunsten der Reaktion aus. Die Reaktion leidet zuerst daran, daß die Beschaffung geeigneter Karzinomzellaufschwemmungen schwer ist. Es sind nur zellreiche Tumoren ohne regressive Metamorphose brauchbar. Weiteres sind Zellemulsionen, die mikro-



skopisch tadellos aussehen, häufig unbrauchbar, da sie vom normalen Serum nicht genügend gelöst werden und nur solche Zellen verwendet werden dürfen, die gelöst werden. Von 40 verarbeiteten Tumoren fanden wir nur 4 brauchbar. Wir haben versucht diesen Uebelständen, auf die schon Freund ausdrücklich hingewiesen hat, dadurch abzuhelfen, daß wir Zellemulsionen von Mäusekarzinomen verwendeten, doch haben die Versuche zu keinem brauchbaren Resultat geführt. Immerhin ergaben diese Versuche die Tatsache, daß das Karzinom der Mäuse menschlichem Serum gegenüber sich so verhält, wie menschliches Karzinom. Auch mit Rattensarkom habe ich mit Ishiwara ähnliche Resultate erhalten, indem wir fanden, daß Serum gesunder Ratten die Zellen viel stärker gelöst hat, als Serum der Tumorratten. Was nun unsere Resultate in diagnostischer Beziehung betrifft, so fanden wir von 28 Tumorfällen in 20 Fällen (71,4 Proz.) keine Zellösung, von 39 Fällen andersartiger Erkrankungen gaben 6 (15,3 Proz.) Fälle eine Karzinomreaktion und 9 Fälle (23 Proz.) eine fragliche Reaktion. Interessant ist die Tatsache, daß bei rezidivfreien Fällen das Serum bald die Lösungsfähigkeit gewinnen kann. Freund berichtet über 8 Fälle. Wir haben Serum von 7 Fällen verschiedene Zeit nach der Operation untersucht (1 Monat bis 11 Jahre) und fanden normale Lösungsfähigkeit. Die Meiostagminreaktion bleibt nach Ascoli und Izar längere Zeit nach der Operation noch positiv.

Die vorgebrachte Statistik zeigt, daß bei positiver Reaktion ein Tumor mit Sicherheit nicht angenommen werden kann, da andere Krankheitsprozesse auch positiv reagieren können. Die negative Reaktion schließt den Tumor nicht aus, da auch negative Reaktionen bei Tumoren mitgeteilt sind, Auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen können wir den Wert dieser Reaktion nicht so hoch einschätzen, daß wir uns auf Grund des Ausfalles derselben allein zu einer Operation entschließen oder im entgegengesetzten Falle von ihr abstehen würden. Es ist demnach der Freundschen Zellreakion ein die klinische Diagnose ergänzender und unterstützender, jedoch nicht ausschlaggebender Wert beizumessen.

Freund und Kaminer glauben, daß ihre Reaktion der Ausdruck einer erworbenen Karzinomdisposition sei. Zu dieser Hypothese kamen diese Autoren durch die Beobachtung, daß einerseits bei Karzinomkranken die Entwicklung der Metastasen durch Zellverschleppung oft in ungemein kurzer Zeit stattfindet, andererseits bei nicht disponierten Individuen derselben Tierspezies wenige Tage nach Impfung eines Tumorstückes die Zellen vollständig verschwinden. Die von ihnen nachgewiesene zellzerstörende Wirkung des Serums verhindert den Erfolg der Impfung und es ist zum Wachstum der Tumoren eben notwendig, daß das Blut des betreffenden Individuums die zellzerstörende Kraft verliert und zellschützende Stoffe enthält. Sie nehmen also eine Veränderung des Eiweißes im Blute als das Primäre an, auf deren Grundlage dann durch andere, vielleicht verschiedenartige Ursachen das Karzinom entsteht (Paltauf). Einen direkten Beweis für ihre Anschauung haben Freund und Kaminer bisher nicht erbringen können. Einzelne Autoren haben sich ihrer Hypothese (Fränkel, Hochenegg) angeschlossen.

Wäre die Annahme, daß eine erworbene Krebsdisposition den Ausfall der Reaktion bewirke, richtig, so müßte vor allem erwartet werden, daß sehr wenig vorgeschrittene Karzinomfälle die Reaktion auch geben und ebenso die klinisch langsam verlaufenden Epithelialkarzinome, die aber schließlich doch zur allgemeinen Aussaat führen und deren Entwicklung ja ebensogut



wie das Auftreten der übrigen Karzinome eine bestehende Disposition zur Voraussetzung haben müßten. Beide Punkte treffen nach unseren Untersuchungen nicht zu. Dazu kommt aber noch die Tatsache, daß Serum Gravider im 10. Monat, als auch Nabelblutserum die Reaktion konstant aufweist. Außerdem muß noch in Erwägung gezogen werden, daß bei andersartigen Erkrankungen, wie Monakows Untersuchungen und unsere eigenen zeigen, ebenfalls positive Freundsche Reaktion gefunden werden kann. Nicht unerwähnt darf schließlich auch der von uns erhobene Befund bleiben, daß einerseits Tiersera, wie Ziegen- oder Schafserum, menschlichen Karzinomzellen gegenüber ein gleiches Verhalten zeigen, wie Karzinomserum und daß andererseits beispielsweise Kaninchenserum das Verhalten des normalen Menschenserums aufweist.

Diese Momente bewegen uns zu der Annahme, daß die Freund-Kaminersche Reaktion nicht auf einer erworbenen Tumordisposition beruhe, sondern, daß sie auf einer vermutlich durch Stoffwechselprodukte der Geschwulst hervorgerufene Veränderung des Blutserums bei bösartigen Neubildungen zurückzuführen sein dürfte.

Die Züchtungsversuche von Carrel und Burrow zeigen ebenfalls daß im Sarkomplasma zellösende Substanzen fehlen, da die Tumorfragmente rapider wachsen als im Normalplasma. Auch die Versuche von Hirschfeld bestätigen die Freund-Kaminer Befunde, sie zeigen nämlich, daß Normalserum die Tumorzellen derart schädigt, daß die Impfresultate viel ungünstigere sind als mit Tumorzellen, welche mit Tumorrattenserum in Kontakt waren.

Gleichzeitig mit der Arbeit von Freund und Kaminer erschien eine Mitteilung von Neuberg, aus welcher ebenfalls eine Differenz zwischen Normalserum und Tumorserum hervorgeht. Neuberg fand im Gemisch von Karzinombrei und Normalserum mehr koagulablen Stickstoff als im Gemisch mit Karzinomserum. Hiermit ist eine Tatsache ermittelt, welche chemisch ausdrückt, was die Zellreaktion nach Freund-Kaminer anzeigt.

Der öfters schon hervorgehobene Parallelismus im Stoffwechsel der Graviden und Karzinomkranken ließ den Gedanken zu, ob nicht vielleicht das Serum Gravider der Karzinomreaktion gegenüber sich gleich verhält.

Zusammenfassend können wir auf Grund unserer (Kraus und v. Graff) Untersuchungen die Tatsache feststellen, daß das menschliche Nabelblutserum menschliche Karzinomzellen nicht zu lösen imstande ist. Dieses Serum verhält sich demnach konstant so, wie Karzinomserum (Freund und Kaminer, Neuberg). Allerdings soll zwischen Nabelblutserum und Karzinomserum nach Freund insofern ein Unterschied bestehen als im ersteren zellschützende Stoffe, die im Karzinomserum vorhanden sind, fehlen. Das Serum der Graviden (bis zum 10. Monat) verhält sich Karzinomzellen gegenüber wie normales Serum. Das Serum der Graviden im 10. Monat weicht insoferne ab, als es nicht imstande ist, so stark Karzinomzellen zu lösen, wie das der Graviden der vorherigen Monate und häufig sogar die hemmenden Eigenschaften aufweist, die dem Nabelschnurserum, resp. Karzinomserum eigen sind.

In Fortsetzung dieser Arbeiten habe ich mit Ishiwara und Winternitz dann später mitgeteilt, daß embryonale (menschliche) Zellen biologisch ein ähnliches Verhalten aufweisen wie Karzinomzellen. Embryonale Zellen wurden vom fötalen Serum nicht gelöst, wogegen retroplazentares Serum dieselben zu lösen imstande ist.

Ob embryonale Zellen sich vollkommen gleich verhalten wie Karzinomzellen, konnte ich gemeinschaftlich mit Ishiwara in einer späteren Arbeit entscheiden.

Menschlich embryonale Zellen zeigen biologisch ein anderes Verhalten als Organzellen Erwachsener (Leber), da sie vom menschlichem Serum stärker gelöst werden. Dadurch weisen sie eine biologische Uebereinstimmung mit Karzinomzellen auf. Auch darin verhalten sich embryonale Zellen wie Karzinomzellen, daß sie vom fötalen Serum nicht gelöst werden, wohl aber vom mütterlichen. Vom Serum Karzinomkranker, welches Karzinomzellen nicht löst (Freund und Kaminer), werden aber embryonale Zellen ebenso gelöst wie vom Serum Gesunder.

Es bliebe noch die Frage zu erörtern, wie man sich dieses verschiedene Verhalten des fötalen und Serum Karzinomkranker gegenüber embryonalen und Karzinomzellen erklären soll. Fötales Serum löst weder Karzinom- noch embryonale Zellen, Serum Karzinomkranker löst embryonale nicht aber Karzinomzellen. Wenn wir mit Freund und Kaminer als Ursache für die Lösung einen lösenden Körper und für das Ausbleiben der Lösung im Serum Karzinomkranker einen schützenden Körper annehmen, würden sich wohl die Verhältnisse mit fötalem Serum, nicht aber mit Serum Karzinomkranker erklären lassen. Wenn man jedoch annehmen würde, daß die lösende Eigenschaft der Sera für embryonale und Karzinomzellen durch zwei verschiedene lösende Körper bedingt sei, ließen sich vielleicht diese Tatsachen mit der Vorstellung von Freund und Kaminer in Einklang bringen. Eine andere Vorstellung, welche Paltauf äußert, geht dahin, daß dem fötalen Serum die lösende Substanz überhaupt fehlt und daß im Karzinomserum eine spezifisch hemmende Substanz die Lösung der Karzinomzellen verhindert, nicht aber die der embryonalen Zellen. Jedenfalls könnten erst Absättigungsversuche mit embryonalen und Karzinomzellen darüber Aufschluß geben.

Und noch zum Schluß einige Worte über die Trübungsreaktion nach Freund und Kaminer, bei welcher Karzinomserum im Tumorextrakt eine sofortige Trübung gibt, wogegen normales Serum den Extrakt klar läßt.

Arzt teilt 93,17 Proz. positive Befunde mit, bei Karzinom und nur 3,87 Proz. bei andersartigen Erkrankungen. Unsere Erfahrungen lauten nicht günstig. v. Graff und Ranzi haben darüber ausgedehnte Versuchsreihen angestellt und widersprechende Resultate erhalten, so daß die diagnostische Bedeutung dieser Reaktion derzeit als zweifelhaft hergestellt werden muß.

In Fortsetzung dieser Studien haben Freund und Kaminer ermittelt, daß die wirksamen Substanzen im Karzinomextrakt ein kolloidales Kohlehydrat und eine stickstofffreie Säure sein sollen. Die Kohlehydratlösung allein gibt normalem Serum eine Trübung, die Kohlehydratsäureverbindung nur mit Karzinomserum. Die Karzinomextrakte versuchten Freund und Kaminer durch eine 0,1 proz. Glykogen- und Dextrinlösung zu ersetzen. Die trübe Lösung klärt sich durch Karzinomserum, durch Zusatz normalen Serums wird sie trüber, analog wie die Kohlehydratlösung aus dem Karzinomextrakt. Ob diese Reaktionen diagnostisch verwertbar sein dürften, darüber liegen bisher keine Angaben vor. In ähnlicher Richtung bewegen sich die Versuche Stammlers. Ein opaleszierender Extrakt aus Karzinomgewebe wird durch Zusatz des Krebsserums unter Bildung eines Niederschlags geklärt, wogegen normales Serum die getrübte Flüssigkeit nicht klärt. Mit dieser Reaktion untersuchte Stammler 100 Tumorfälle mit 83 Proz. und 14 Proz. positiven Befunden bei anderen Er-



krankungen. Nachprüfungen darüber liegen nicht vor. Eine diagnostische Bedeutung dürfte dieser Reaktion in Anbetracht der großen Zahl positiver Befunde bei anderen Erkrankungen vorderhand nicht zukommen.

Meine Herren! Ich bin am Schlusse meiner Ausführungen angelangt. Ich war bemüht das vorliegende Tatsachenmaterial über Karzinomreaktionen objektiv einer Kritik zu unterziehen, die Kriterien für eine brauchbare Karzinomreaktion zu fixieren und den diagnostischen Wert derselben sachlich zu beurteilen. Danach scheint es, als ob man von dem Ziele nach einer brauchbaren Karzinomreaktion nicht mehr weit entfernt sein dürfte.

VI. v. Wasielewski (Heidelberg):

Ueber Tiergeschwülste in der Umgebung des Menschen.

(Mit Tafel II und III.)

Die Annahme, daß Parasiten bei der Entstehung der Geschwülste beteiligt sein könnten, darf — wie wohl heute anerkannt werden muß — den Anspruch auf eine wissenschaftlich zulässige Arbeitshypothese machen. Daran ändert die Tatsache nichts, daß die meisten pathologischen Anatomen zur Zeit anderer Ansicht und — trotz fehlender experimenteller Beweise für die Richtigkeit ihrer untereinander stark abweichenden Hypothesen — darin einig sind, daß alles Suchen nach Krebserregern verlorene Mühe und verschwendetes Geld bedeute.

Wer die Geschichte der Geschwulstforschung verfolgt, beobachtet, daß aus dem Sammelbegriff „Krebs" oder „bösartige Geschwulst", in welchem die verschiedensten Krankheitsbilder unbekannter Ursache zusammengefaßt sind, immer wieder Gruppen ausgeschieden werden. Die Hoffnung scheint mir berechtigt, daß dieser Vorgang sich wiederholen wird, damit ein Teil der jetzt noch für unvermeidlich gehaltenen Plagen der Menschheit auf belebte Ursachen zurückgeführt und deren verhängnisvolle Wirkung abgewendet werden kann. Wenn aber auf diesem schwierigen Arbeitsgebiet Fortschritte gemacht werden sollen, so gilt es vor allem zu entscheiden, ob es endemisch gehäufte Geschwulstformen gibt, bei denen die Hauptfrage, ob und welche Krebsformen erblich, welche durch äußere Ursachen bedingt sind, einwandfrei beantwortet werden kann. Zwar sprechen auch bei menschlichen Geschwülsten mancherlei Erfahrungen gegen ausschließliche innere Ursachen. Aber trotz aller Mühewaltung ist es bisher nicht gelungen die örtliche Häufung von Krebsfällen, die sicher vorkommt, beim Menschen für die grundsätzliche Entscheidung dieser Frage zu verwerten.

In den Arbeiten des Londoner Krebsinstituts ist darauf hingewiesen worden, daß das gehäufte Vorkommen des sog. Kangri-Krebses in bestimmten Gegenden Persiens sich nicht durch abnorme Verlagerung von Gewebskeimen, sondern nur durch das Tragen des Bauchkohlenofens (Kangri) erklären lasse, ebenso die Häufung des Wangenkrebses bei bethelkauenden Frauen Asiens. Diese statistischen Feststellungen sind von großem Wert, vorläufig jedoch noch keine Beweise dafür, daß die merkwürdigen Lokalisationen ausschließlich durch mechanische und chemische Reize bewirkt



sind. Denn in beiden Fällen geht der Krebsbildung eine chronische Entzündung voraus, welche das Eindringen von Kleinwesen in die ihres Epithelschutzes beraubte Haut oder Schleimhaut begünstigt. In beiden Fällen ist es sehr wohl denkbar, daß neben den unbelebten auch belebte Reize eine Rolle spielen. Bei den sich des Kohlenofens bedienenden Völkern dürfte die Hautpflege besonders im argen liegen und die „Bevölkerung" der erwärmten Kleider mit Schmarotzern über das sonst selbst bei Asiaten übliche Maß hinausgehen; hierunter könnten sich Hautschmarotzer finden, deren Ansiedlung auf der chronischen gereizten Bauchhaut die Krebsbildung begünstigen könnte. Auch die Wirkung des Bethelkauens, wobei ein Pflanzenaufguß nach besonderem Gärungsvorgange lange auf die Wangenschleimhaut einwirkt, braucht nicht ausschließlich chemisch zu sein: gleichzeitig könnten Lebewesen aus den in Zersetzung begriffenen Pflanzen oder aus der Mundhöhle sich beteiligen, gegen welche die durch das Bethelkauen angegriffene Wangenschleimhaut schutzlos wäre.

Es sei deshalb hier auf die Notwendigkeit hingewiesen, den Kangri- und Bethel-Krebs daraufhin parasitologisch zu untersuchen, ob nicht ebenso wie beim Bilharziakrebs Parasiten die Entstehung der bösartigen Neubildungen begünstigen. An ähnliche Verbindungen von physikalischen und parasitären Reizen muß auch beim Röntgenkrebs gedacht werden, zumal bisher alle Versuche fehlgeschlagen sind, durch reine Röntgenwirkung Krebs experimentell zu erzeugen.

Leider sind die Aussichten gering, in absehbarer Zeit eine erschöpfende Statistik des Menschenkrebses zu schaffen, Es wird jahrelanger Bemühungen bedürfen, bis in weiteren Aerztekreisen auf eine verständnisvolle freiwillige Mitarbeit gerechnet werden kann. Seit Jahrzehnten werden den Medizinstudierenden Erklärungen über die vermeintlichen Geschwulstursachen gegeben, welche völlig in der Luft schweben und den Arzt zwingen an der Möglichkeit einer endemischen Häufung von Krebs vorbeizusehen. Unter diesen Umständen ist es erklärlich, daß nur verhältnismäßig spärliche positive Beobachtungen in die Fachpresse gelangen, zumal es sich um Leiden handelt, die sich zeitlich nur in größeren Abständen folgen.

Auch der zurzeit wertvollsten Statistik, von Werner über das Krebsvorkommen in Baden, haftet der Nachteil an, daß infolge des hohen Krebsalters des Menschen der Einfluß einzelner Orte für die Krebsentstehung nur in vereinzelten Fällen klar zutage tritt. Bei der völlig objektiven, sicher nicht für die Infektionstheorie voreingenommenen Prüfung des statistischen Materiales kommt Werner zu der bemerkenswerten Schlußfolgerung:

„Die Häufigkeit des Krebses hängt nicht von einer hereditären Belastung der Familien, sondern von äußeren, am Ort haftenden Bedingungen ab."

Wie ich bei den Demonstrationen tierischer Schmarotzer im Gewebe hervorhob, ist zurzeit weder die parasitologische Technik noch das biologische Experiment imstande, die Geschwulsträtsel zu lösen. Da auch die Menschenstatistik kaum in absehbarer Zeit hierzu imstande sein dürfte, so bleibt der Versuch berechtigt, die Tierstatistik, welche in den letzten Jahrzehnten manche überraschende Tatsache klargestellt hat, zu verwerten.

Freilich dürfen wir hierbei von räumlich ausgedehnten Untersuchungen kaum Vorteil erwarten. Nur durch persönliche Bemühungen in engen sich allmählich erweiternden Bezirken wird man die Aufmerksamkeit der Beteiligten genügend für derartige Aufgaben schärfen können. Besonders scheint eine Prüfung des Vorkommens von Geschwülsten bei den Tieren,



mit welchen der Mensch in seinem Haushalt am meisten in enge Berührung kommt, wertvolle Aufschlüsse zu versprechen. Nach meinen Erfahrungen kommen hierfür in erster Linie die Hunde, das Geflügel und die Hausnager (Ratten und Mäuse) in Betracht. Wenn sich herausstellen sollte, daß bei einer dieser Tiergruppen Geschwülste örtlich gehäuft auftreten, so würde sich damit ein neuer Angriffspunkt zur Entscheidung der Frage: innere oder äußere Ursachen? ergeben. Läßt sich der Einfluß der ersteren, besonders der Erblichkeit, ausschließen, so könnten entweder dieselben oder ähnliche Lebensbedingungen die Geschwulstbildung bei Menschen und Tieren begünstigen, ein direkter oder indirekter Zusammenhang zwischen Menschen- und Tierkrebs vorliegen.

Es kann hier nicht ausführlich berichtet werden, wie sich frühere Forscher zu dieser Frage stellten. Wir finden bei Morau (1895) eine Auslese von Beispielen, welche einen Zusammenhang zwischen Menschen- und Tierkrebs beweisen sollen. Auch L. Pfeiffer hatte ähnliche Gedankengänge bei seinen Krebsforschungen im Auge. Da aber Uebertragungen von Menschengeschwülsten auf Tiere fast ausnahmslos mißlangen, muß für die vereinzelten erfolgreichen Impfungen die Möglichkeit zugegeben werden, daß diese Impfungen den Krebs nicht erzeugt, sondern eine in der Entwicklung begriffene Geschwulstbildung beschleunigt haben. Andererseits sind diese Versuche wohl bisher nirgends in so großem Stile unternommen worden, um die Möglichkeit eines ätiologischen Zusammenhangs völlig auszuschließen. Es scheint deshalb verfrüht, wenn einzelne Forscher den Zusammenhang zwischen Menschen- und Tierkrebs rundweg leugnen und jede Erörterung dieser Frage als überflüssige Beunruhigung des Publikums ablehnen.

Dem Nachweis von Hundegeschwülsten erwachsen noch zahlreiche Schwierigkeiten. Zweifellos wird die überwiegende Mehrzahl krebskranker Hunde verscharrt und nicht der Forschung zugänglich. Immerhin gelingt es bei geeigneter Sorgfalt fast überall, bösartige Geschwülste bei Hunden nachzuweisen, darunter ganz ähnlich wie beim Menschen unter Metastasenbildung zum Tode führende Leiden. Mehrfach wurde schon das Auftreten von Papillombildungen bei wertvollen Zuchthunden beschrieben. Auch wir konnten 3 solche Fälle beobachten, in welchen die Hündin, von welcher ein wertvoller Deckrüde ein Penispapillom erwarb, sowie eine zweite Hündin, welche von dem Rüden infiziert wurde, hintereinander zur Behandlung gelangten. Diejenigen Institute, welche in gemeinsamer Arbeit mit Tierärzten sich an der operativen und chemotherapeutischen Behandlung der Hundegeschwülste beteiligen, werden sicher wachsendes Material sammeln und im Laufe der Jahre über gehäuftes Auftreten von Hundegeschwülsten in bestimmten Orten ein eigenes Urteil abgeben können. (Demonstration von Photogrammen geschwulstkranker Hunde.)

Wenn auch beim Hunde bisweilen schon im 2. Lebensjahre Spontangeschwülste vorkommen und dadurch der Zusammenhang mit Lebensweise und Oertlichkeit leichter nachweisbar wird als beim Menschen, so tritt doch die Mehrzahl der Geschwülste erst in höherem Alter auf. Dann hat aber eine große Anzahl von Hunden schon mehrfach den Besitzer sowie den Wohnort gewechselt und damit erschwert sich der Nachweis von Geschwulstendemien. Ferner begegnet die Haltung größerer Zahlen von Hunden äußeren Schwierigkeiten, so daß wohl nur sehr wohlhabende Institute das aussichtsreiche Studium der Hundegeschwülste in dem erwünschten großen Maßstabe in Abgriff nehmen können.



Bis vor wenigen Jahren wurde das Auftreten von Geflügelgeschwülsten als etwas äußerst Seltenes betrachtet. Wernicke (1909) hat auf meine Veranlassung die ersten von uns gesammelten Fälle beschrieben und die wenigen in der Literatur veröffentlichten Fälle zusammengestellt.

Auch uns gelang — ausschließlich durch Bemühungen in Heidelbergs Umgebung — anfangs der Nachweis von Hühnergeschwülsten nur spärlich. Es fiel jedoch bald auf, daß die Mehrzahl aus einem Seitental des Neckars und zwar aus einem bestimmten Dorf herrührten, ohne daß die Nachbardörfer geschwulstkranke Hühner lieferten, obgleich dieselben, mit der Krankheit vertrauten Vermittler in der Umgebung mit der größten Sorgfalt nach Geschwülsten fahndeten. Fast 50 Proz. der aus dem befallenen Ort bezogenen geschwulstverdächtigen Hühner zeigten bösartige Geschwülste und zwar:

im	Jahr	1909	von	2	Hühnern	1
„	„	1910	„	6	„	3
„	„	1911	„	26	„	11.

Unter den Geschwülsten waren 11 epithelische Neubildungen, 4 Sarkome. Daneben wurden mehrfach klinisch Geschwulstleiden durch Tuberkuloseinfektionen vorgetäuscht. Ein Spindelzellensarkom, wie es Rous zur erfolgreichen Impfung, auch mit zellfreien Filtraten, verwenden konnte, kam nicht zur Beobachtung. Ueberhaupt scheiterten unsere Impfversuche bisher daran, daß wir niemals in der Lage waren, größere Impfreihen anzulegen, was nach allen Erfahrungen notwendig wäre, um Spontangeschwülste mit Aussicht auf Erfolg weiter zu übertragen. Nur ein Rundzellensarkom des Auges schien bisher bei der Impfung zu haften, wenn es unter die Haut von frischen Hühnern gebracht wurde.

Die aufgestellten Präparate zeigen Ihnen Musterbeispiele derjenigen Geschwulstformen, welche wir bisher vorwiegend bei Hühnern beobachten konnten; durch die folgenden Projektionsbilder möchte ich dieselben kurz für diejenigen Herren erläutern, welche den Geflügelgeschwülsten gleichfalls ihre Aufmerksamkeit zuwenden wollen.

Am Kopf werden hauptsächlich Plattenepithelkarzinome beobachtet, welche am Schnabelansatz in Knotenform auftreten und allmählich geschwürig zerfallen. (Tafel II. Fig. 1.) Sie greifen dann entweder auf die Unterkiefergegend und Zunge über oder dehnen sich nach dem oberen Gaumen aus, erschweren die Futteraufnahme und führen so schließlich durch Kräfteabnahme zum Tode der Tiere. Einmal wurde uns ein Tier mit einer ausgedehnten Geschwulst am linken Auge gebracht, welches den Augapfel vollständig verdrängt hatte, so daß es den Anschein hatte, daß dasselbe vollständig zugrunde gegangen sei. Es erwies sich jedoch als nur stark verlagert und infolge der Verlagerung atrophisch geworden. Der über walnußgroße Tumor ging in die knochigen Bestandteile des Schädels über und war histologisch ein Rundzellensarkom.

Gelegentlich in der Ohrgegend auftretende Anschwellungen scheinen keinen reinen Geschwulstcharakter zu besitzen, sondern gutartige Atherome zu sein.

Der Vormagen des Geflügels zeigt bisweilen Wucherungen der Schleimhaut, die nicht unbedingt bösartig sein müssen. In der älteren parasitologischen Literatur findet man die Angabe, daß Wucherungen der Vormagenschleimhaut gleichzeitig mit Wurminfektion beobachtet sind und zwar sind dieselben hauptsächlich bei Raubvögeln, Eulen und Enten aufgefunden worden.

Durch die Liebenswürdigkeit des Direktors des Hygienischen Institutes zu Heidelberg, Herrn Prof. Dr. Kossel, erhielten wir eine besonders stark ausgebildete Geschwulstform dieser Art. Es handelte sich um eine Taube, deren Abbildung ich Ihnen hier zeige, welche von dem Besitzer wegen zahlreicher Geschwülste auf der Oberfläche des Körpers getötet und dem Hygienischen Institut eingeliefert worden war. (Tafel II. Fig. 2). Bei der Sektion erwies sich das Tier außerdem mit Dispharagusinfektion behaftet und zeigte den Tafel I, Fig. 1 hierneben abgebildeten großen papillomatösen Tumor, der den Vormagen fast völlig ausfüllte. Ich bemerkte bei der genaueren Besichtigung dieses Tumors auf dessen Oberfläche einige feine kaum 0,5 mm dicke Fädchen, welche ich nur mühsam von der Schleimhaut loslösen und als mit ihrem Vorderende tief in dieselbe hineingesenkte Würmer erkennen konnte; sie waren an ihren eigenartigen Anhängen als eine besondere Art der Gattung Dispharagus leicht zu bestimmen. Diese Anhänge, vier an der Zahl, beginnen an der vorderen Spitze des Kopfes und reichen etwa einen Millimeter weit nach hinten. Das hintere Ende dieser Anhänge ist gewöhnlich nach vorn umgeschlagen, ihr Verlauf wellig. (Tafel I. Fig. 2.) Während in den älteren Beschreibungen diese Anhänge als Verdickung des Hautschlauches beschrieben wurden, habe ich den Eindruck, daß dieselben sich wenigstens teilweise vom Körper abheben und als Haftorgane die Befestigung des Wurmes in der Schleimhaut unterstützen können. Auf Serienschnitten ergibt sich, daß diese Auffassung berechtigt ist. (Tafel I. Fig. 3.) Der Nachweis der Würmer in den Schleimhautwucherungen begegnet im Schnittpräparat häufig Schwierigkeiten. In zahlreichen Querschnitten werden sie vermißt, besonders in Paraffinschnitten fallen die Wurmquerschnitte leicht heraus; aber auch in Zelloidinschnitten kann dies vorkommen, da sich offenbar der Hautmuskelschlauch des Wurmes nur langsam und ungleichmäßig mit dem Einbettungsmittel durchtränkt. Da die Würmer in den verschiedensten Tiefen des Papilloms angetroffen werden, so ist anzunehmen, daß sie sich schon vor Bildung der Wucherung an die normale Schleimhaut geheftet haben und daß ihre Anwesenheit die Wucherungserscheinungen unterstützt, wenn nicht ausgelöst hat. Bemerkenswert ist, daß in der Umgebung der Anheftungsstelle des Wurmes sich eine schmale Zone einer zellfreien Ausschwitzung befindet. Tafel I, Fig. 3. Eine Abkapselung der Würmer findet nicht statt; wo dieselben das wuchernde Schleimhautepithel berühren, lagern sie unmittelbar neben den Epithelzellen. Entzündliche Vorgänge fehlen vollständig.

Die Hautgeschwülste, welche bei denselben Tieren beobachtet wurden, zeigten wohl in ihrer Umgrenzung erhebliche Wucherung der Oberhaut und der oberflächlichen Hautdrüsen; im übrigen bestanden sie jedoch aus einer sarkomähnlichen Gewebsmasse; auf die weiteren Einzelheiten des histologischen Baues der Wucherungen kann hier nicht näher eingegangen werden. Leider gelang es bisher nicht, an anderen Tauben aus demselben Schlag, ähnliche Erkrankungen nachzuweisen.

Die Mehrzahl der Geflügelerkrankungen beobachteten wir, wie schon bemerkt, bei Hühnern und zwar waren hauptsächlich die Baucheingeweide befallen; sie gehen hier wohl sämtlich von Erkrankungen des Eierstocks und des Eileiters aus, neigen dann aber außerordentlich stark zu Metastasenbildungen auf dem ganzen Bauchfellüberzug. Die aufgestellten Präparate zeigen Ihnen, wie zahlreich die Geschwulstknoten werden können und wie stark dieselben in ihrer Größe voneinander abweichen. Bisweilen finden sich



auch mehrere Herde in der Leber. Mit dem Auftreten dieser Geschwülste ist gewöhnlich die Ansammlung bernsteingelber Flüssigkeit in der Bauchhöhle verbunden, welche ½ bis 1 l betragen und den Leib entsprechend stark ausdehnen kann. Infolgedessen hängt der Leib beim Huhn stark herab, schleift bisweilen direkt auf den Erdboden und verliert infolgedessen seine Federbekleidung. Derartige Hühner werden von dem Besitzer häufig für besonders fett gehalten und nur ihres unschönen Aussehens halber nicht in den Handel gebracht, sondern für den eigenen Gebrauch getötet. Stellt sich beim Schlachten die Krankheit heraus, so werden die Tiere verscharrt und nur ausnahmsweise sachverständiger Untersuchung zugeführt.

Aber nicht alle diese Anschwellungen des Unterleibs sind auf echte Geschwülste zurückzuführen, wenn das äußere Krankheitsbild auch den Geschwulsteindruck erweckt. Bisweilen wird die starke Auftreibung des Leibes durch große Eierstockcysten bedingt, welche fast Kindskopfgröße erreichen können und wässerigen Inhalt haben. In anderen Fällen waren abnorm gelagerte und entartete Eier der Anlaß zu einem falschen Geschwulstverdacht gewesen. Auch durch Kotstauung bedingte Wucherungen am After täuschen bisweilen jauchende Dickdarmgeschwülste vor, welch letztere jedoch daneben vorkommen können. An den unteren Gliedmaßen kam einmal ein ausgedehntes Rundzellensarkom von der Oberschenkelmuskulatur ausgehend zur Beobachtung (Tafel III. 1); bei diesen wie bei anderen Geschwulsttieren wurde häufig eine Sarkosporidieninfektion der gesamten Körpermuskulatur beobachtet, welche aber nur selten einen so hohen Grad erreicht, daß sie auch makroskopisch erkannt wird.

Besonders häufig sind Neubildungen an den Füßen der Hühner, sie gehen entweder von Verletzungen aus oder von sehr verbreiteten Milbeninfektionen, welche die sog. Kalkbeine veranlassen. Diese an sich gutartige Erkrankung verändert sich im Laufe der Zeit, wenn sie vernachlässigt wird, verhältnismäßig häufig in Plattenepithelkrebs (Tafel III. 2); die Erkrankung ergreift dann leicht, wie durch die demonstrierten Röntgenaufnahmen bewiesen werden kann, auch die Knochen und erweist sich auf diese Weise als überaus bösartig (Tafel III. 3). Harmloserer Art scheinen die mehr Granulationsgeschwülsten vergleichbaren Anschwellungen des Fußballens zu sein, an welchen nicht nur Hühner, sondern auch andere Vogelarten, besonders Singvögel, leiden.

Die Häufigkeit des Vorkommens von Hühnergeschwülsten in einzelnen Dörfern weist darauf hin, daß hier besondere begünstigende Verhältnisse vorhanden sein müssen. Es werden aber weitere Beobachtungen notwendig sein, um die Frage zu entscheiden, ob es sich um besondere Rasseneigentümlichkeiten handelt oder ob örtliche Einflüsse im Spiel sind. Merkwürdigerweise handelt es sich in all diesen Geschwulstfällen nicht um Erkrankungen, besonders hochgezüchteter Rassen, welche nach Ansicht mancher Tierärzte zu Geschwulstbildung überhaupt geneigter sein sollen, sondern um das gemeine Landhuhn, welches allerdings in den bäuerlichen Gehöften unter sehr ungesunden Verhältnissen lebt. Soweit ich bisher feststellen konnte, ist ein gehäuftes Vorkommen von Geschwülsten in Züchterein Badens, welche edle Rassen aufziehen und unter günstigen hygienischen Verhältnissen halten, noch nicht zur Kenntnis der badischen Tierärzte gekommen. Bei der Leichtigkeit, mit der man Bruteier aus einem Dorf und aus Gehöften, in welchen mehrfache Geschwülste beobachtet worden sind, beziehen könnte, läge es nahe, einen Versuch im großen anzustellen, ob unter der Nachzucht an einem ge-

schwulstfreien Ort dieselben Erkrankungen beobachtet werden. Leider gestatten die Mittel unseres Institutes es zurzeit nicht, diese für die Aetiologie der Geschwülste wichtige Frage experimentell zu lösen.

Abgesehen von theoretischen Erwägungen erscheint das Studium der Verbreitung des Geflügelkrebses praktisch deshalb wichtig, weil in der Landbevölkerung nächst dem Hund wohl kein Tier mit dem Haushalt in engere Beziehungen tritt als das Huhn. Wenn sich die Voraussetzung bestätigen sollte, daß Geflügelgeschwülste auf infektiöser Grundlage entstehen können, so wäre ein Zusammenhang mit menschlichen Geschwülsten auf verschiedene Weise denkbar. Es könnten erstens Hühner Absonderungen menschlicher Geschwülste aufnehmen, zweitens gemeinsame Parasiten der Haut vorkommen, welche einen Austausch von Krankheitserregern vermitteln könnten und schließlich könnten die gerade von schwächlichen und kränklichen Personen genossenen rohen Eier eine Ansteckung vermitteln. Es sind das zur Zeit natürlich rein theoretische Erwägungen, welche jedoch bei weiteren Forschungen über die Aetiologie der Geschwülste im Auge behalten werden sollten.

In viel engere, wenn auch häufig viel schwerer nachweisbare Beziehungen zum menschlichen Haushalt treten Hausschmarotzer, von welchen für Geschwulsterkrankungen nur die Hausnagetiere — Ratten und Mäuse — in Frage kommen. Unter diesen ist nun die Maus bekanntlich ganz besonders zur Geschwulstkrankheit disponiert. Von dieser Tatsache würden wir kaum unterrichtet sein, wenn nicht die weiße und gescheckte Maus zu vielen Tausenden durch die Hand ärztlicher Forscher läuft. Es ist historisch interessant, daß vor nicht zu langer Zeit das Auftreten von Mäusegeschwülsten noch als Fehler betrachtet wurde, welche das Ablehnen von Mäuselieferungen begründete. Besonders seit den Untersuchungen von Jensen ist die Nachfrage nach Mäusegeschwülsten eine so große geworden, daß es eine Zeitlang schwer hielt, dieselben selbst gegen hohe Bezahlung zu erreichen; (manche Institute bezahlten bis zu 100 M. für eine Geschwulstmaus). Inzwischen hat sich herausgestellt, daß Mäusekrebs in sehr vielen Züchtereien vorkommt, daß es aber besonderer Aufmerksamkeit bedarf, um die Krankheit festzustellen, weil die Haltung der Mäuse in der Regel eine so wenig übersichtliche ist, daß kranke Mäuse vom Züchter nicht beobachtet und nach ihrem Tode von den Käfiggenossen gefressen werden.

Aber nicht nur in Züchtereien weißer Mäuse kommt der Krebs vor, auch bei grauen Mäusen ist in bestimmten Häusern ein gehäuftes Vorkommen von Mäusegeschwülsten beobachtet worden. So erhielt Schöne aus einem alten Berliner Haus im Laufe von 11 Monaten 15 Spontangeschwülste grauer Mäuse, worüber Ascher genauer berichtet hat. Bei den Schwierigkeiten, welche es bereitet, alle Geschwulsttiere in einer Zucht weißer Mäuse zu erreichen, läßt sich vermuten, daß auch die grauen Mäuse häufiger erkranken, als bisher bekannt war. Es wäre selbstverständlich von größtem Interesse, hierüber genauere Untersuchungen anzustellen.

Besonders sollte in Anstalten, in welchen Leichenmaterial häufig aufbewahrt wird, also in Leichenhäusern, Anatomien, Pathologischen Anatomien, Tierärztlichen Instituten: dann aber auch in Siechenhäusern, chirurgischen Kliniken und vor allem auch in Krebshäusern planmäßig auf das Vorkommen von Krebs unter den Hausmäusen geachtet werden.

Die umfangreiche Literatur über das gehäufte Vorkommen von Mäusekrebs ist auf meine Veranlassung kürzlich zusammengestellt worden. Wir



werden darüber an anderer Stelle berichten, und bei dieser Gelegenheit unsere eigenen Beobachtungen ausführlicher mitteilen. Wir verschafften uns Zuchtmäuse aus einer Züchterei, in welcher bis dahin etwa 2,5 Proz. Geschwülste beobachtet waren. Hier sei kurz zusammengefaßt, daß wir in einer Reihe von 9 Mäusezuchtkästen, welche mit Tieren derselben Herkunft und desselben Alters besetzt waren, nur in einem Kasten Geschwülste auftreten sahen. In diesem Kasten erkrankten aber von 30 Tieren 6, also 20 Proz. Leider wurden unsere Zuchtversuche im Frühjahr dieses Jahres durch eine schwere Bakterienseuche unterbrochen. Es gelang bisher nicht festzustellen, wodurch diese Häufung von Krebsfällen bedingt war. Daß nicht die allgemeinen Alters -und Lebenseinflüsse daran schuld sind, beweist die 8fache Kontrolle gleichalter und gleichgehaltener Mäuse, welche unter absolut gleichen Bedingungen in Nachbarkästen nicht erkrankten.

Die größte Erfahrung über das Auftreten von Mäusegeschwülsten hat durch planmäßige Untersuchungen mit fast unbegrenzten Mitteln zweifellos zurzeit das Londoner Krebsinstitut. Sein Leiter Bashford, glaubt das Vorkommen von Krebsendemien bei Tieren insbesondere bei Mäusen in Abrede stellen zu können. Sie sind nach seiner Ansicht durch eine Häufung von Tieren in krebsfähigem Alter vorgetäuscht. Aber auch Bashford gibt zu, daß weitere Erfahrungen an größerem Material gesammelt werden müssen, ehe ein endgültiges Urteil über die Ursachen des Krebses und die Bedeutung der Vererbung abgegeben werden kann.

Da Bashford sich seit Beginn seiner Tätigkeit als Krebsforscher scharf gegen die Infektionstheorie ausgesprochen hat, scheint es wünschenswert, daß diese Versuche gleichzeitig von anderer Seite in Angriff genommen und dabei ohne Voreingenommenheit alle Möglichkeiten der Krebsentstehung berücksichtigt werden. Es gibt in Deutschland kein Institut, welches allein dazu imstande wäre.

Vielleicht gelingt es aber, eine Sammelforschung über das Auftreten von Mäusekrebsen in Deutschland zustande zu bringen, wenn zahlreiche Institute, welche Mäuse züchten oder von Züchtern regelmäßig Mäuse beziehen, nach einheitlichem Plan daran mitarbeiten. So könnte vor allem die praktisch wichtige Frage entschieden werden: Gibt es Mäusestämme, in welchen Geschwülste trotz jahrelanger sorgfältiger Beobachtungen nicht beobachtet werden, gibt es also krebsfreie Mäusestämme und wie verhalten sich dieselben, wenn sie in Krebskästen oder in anderweitige Berührung mit Krebsmäusen gebracht werden?

Diese Untersuchungen könnten wertvolle Aufschlüsse über die Natur der Geschwulstkrankheiten überhaupt schaffen und ihre Ergebnisse, gesammelt und gemeinsam bearbeitet, für den Kampf gegen den Krebs neue Angriffspunkte aufdecken. Lassen Sie uns versuchen, durch gemeinsame Arbeit einen Feind zu bekämpfen, gegen den die Bemühungen des einzelnen, ja selbst einzelner Institute bisher ohnmächtig geblieben sind.

Zusatz bei der Korrektur: Auf dem im Anschluß an den Vortrag umlaufenden Fragebogen erklärten zwanzig Institutsleiter ihre Bereitwilligkeit, sich an der geplanten gemeinsamen Nachforschung über das Vorkommen von Geschwülsten bei Zuchtmäusen beteiligen, insbesondere in ihren Instituten nach krebsfreien Mäusestämmen fahnden zu wollen. Weitere Meldungen an den Leiter der parasitologischen Abteilung des Instituts für Krebsforschung wären erwünscht.



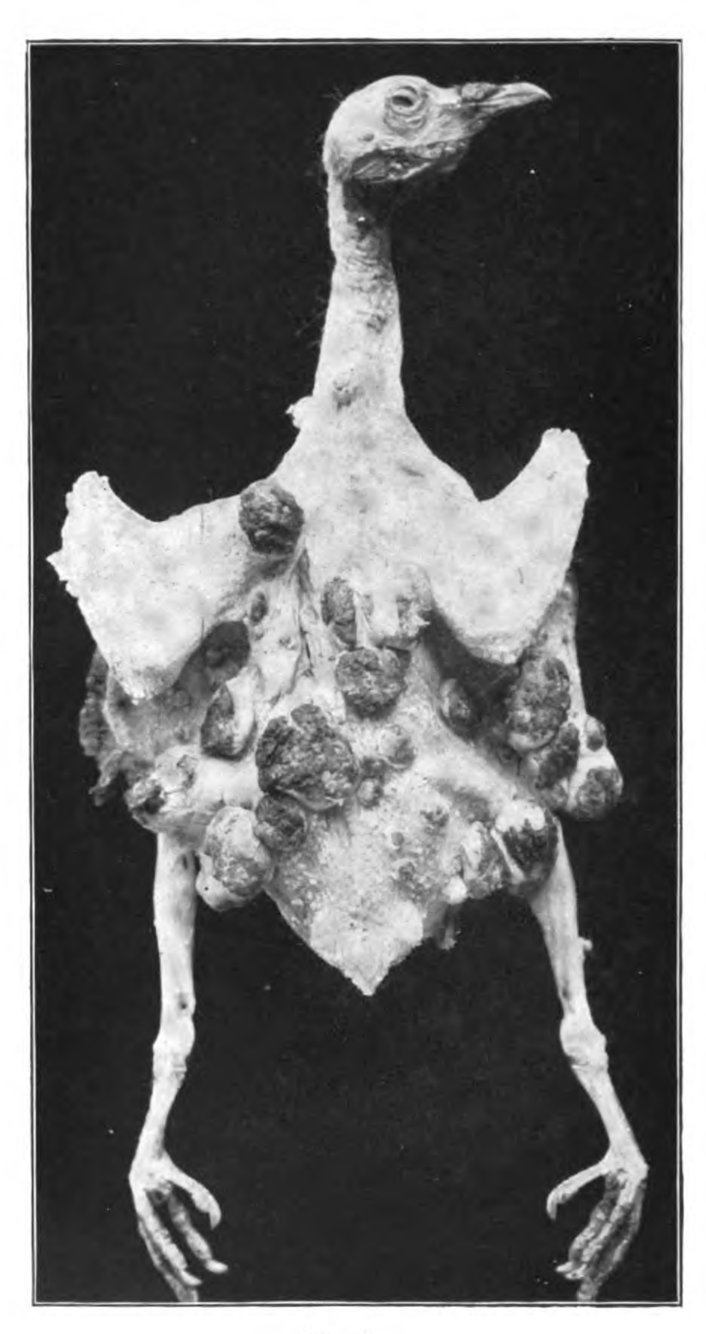
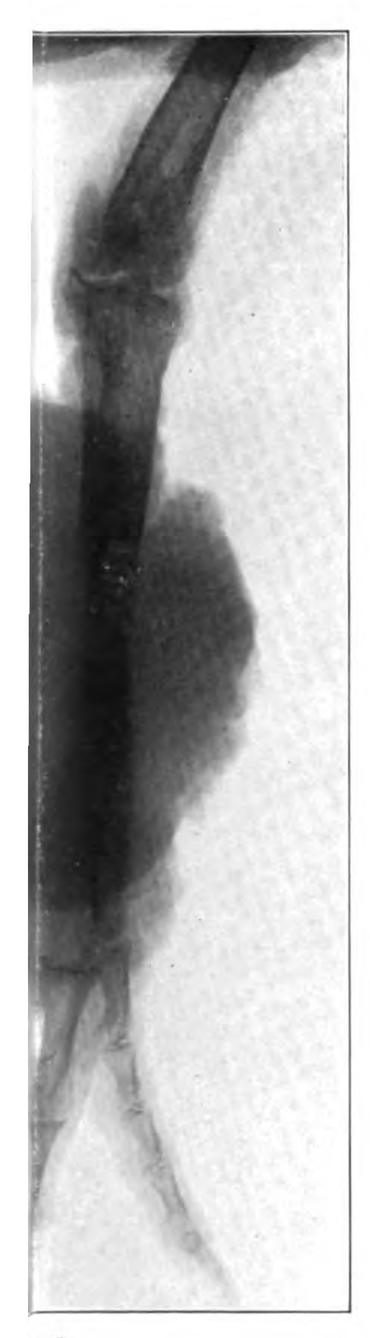


Fig. 1.

Verlag von G



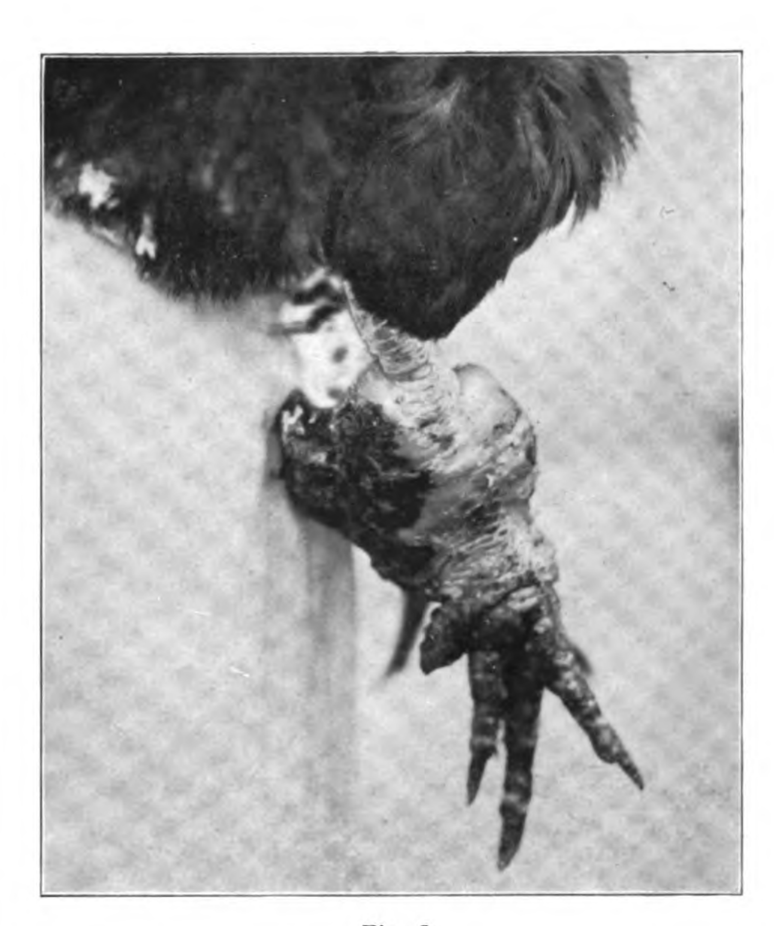


Fig. 3.

. 2.

Fischer in Jena.

Tafelerklärung.

Tafel II, 1. Huhn mit Plattenepithelkrebs am unteren linken Schnabelwurzelansatz.
„ II, 2. Taube mit zahlreichen Sarkomen auf der ganzen Körperfläche.
„ III, 1. Huhn mit großer, von der mit Sarkosporidienschläuchen durchsetzten Oberschenkelmuskulatur ausgehenden Geschwulst (Rundzellensarkom).
„ III, 2. Huhn mit Plattenepithelkrebs am Fuß.
„ III. 3. Röntgenbild eines Plattenepithelkrebses am Fuß eines Huhnes mit Uebergreifen auf die Knochen.

Fig. 1. Magendarmkanal einer an Dispharagusinfektion des Vormagens erkrankten Taube. Die Schleimhaut des Vormagens ist völlig von papillomatösen Geschwulstmassen überlagert und größtenteils zerstört, in die Schleimhaut waren etwa 20 Exemplare von Dispharagus spez.? eingesenkt. b) Magendarmkanal einer gesunden Taube mit normaler Vormagenschleimhaut.

Fig. 2. Aus dem Vormagen der kranken Taube herauspräpariertes Dispharagus-Weibchen. Am Kopfende sind zwei von den vier schlauchförmigen Anhängen deutlich, deren freie Enden nach vorn umgeschlagen sind. Glyceringelatine-Präparat. Vergrößerung 50fach.

Fig. 3. Schnittpräparat durch die papillomatöse Schleimhautwucherung des Taubenvormagens. Das Photogramm zeigt den Kopf eines Dispharagus-Weibchens mit den gewundenen fadenförmigen, deutlich vom Körper abstehenden Anhängen. Formolfixierung. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Vergrößerung 100fach.

VII. Händel und Schönburg (Gr. Lichterfelde):

Ueber Immunität bei Rattensarkom nach Operation des Tumors.

(Vorgetragen von Händel.)

Meine Herren! Gestatten Sie mir nur mit wenigen Worten über einige Versuchsreihen zu berichten, welche sich mit der Frage der Tumorimmunität bei Rattensarkom nach Operation des Tumors befassen und eine erneute Prüfung darstellen, der bereits schon früher hier von Uhlenhuth, Steffenhagen und mir mitgeteilten Befunde.

Wir hatten damals über die Beobachtung berichtet, daß Ratten, welche plötzlich von gut ausgewachsenen, durchschnittlich etwa 3 Wochen alten Tumoren durch Operation befreit wurden, sich Nachimpfungen gegenüber als immun erwiesen und zwar, sowohl wenn die Nachimpfung sofort oder nach einiger Zeit, wie auch wenn sie mit dem eigenen oder einem fremden Tumor erfolgte. Voraussetzung war allerdings, daß sich an der Operationsstelle kein Rezidiv entwickelte. Kam es zur Rezidivbildung, so sahen wir auch an der Stelle der Nachimpfung ebenfalls Tumorentwicklung eintreten. Wir hatten diese Erscheinung durch die Annahme zu erklären versucht, daß es auf die Implantation von Geschwulstzellen bei der Tumorentwicklung zu Wechselbeziehungen zwischen den wuchernden Geschwulstzellen und dem Organismus kommt, d. h. zur Bildung von Schutz- und Abwehrstoffen seitens der Letzteren und im Verlaufe des Tumorenwachstums zu einer gewissen Anpassung an diese Stoffe seitens der Geschwulstzellen. Werden die Tiere durch eine Operation von einem etwa 3 Wochen alten Tumor befreit, so können die im Körper gebildeten Antistoffe nunmehr gegenüber neu implantiertem Geschwulstgewebe voll zur Wirkung kommen und dessen Entwicklung verhindern. Bleiben dagegen bei der Operation auf ihrem Mutterboden unter



günstigen Ernährungsbedingungen belassene, entwickelungsfähige Tumorzellen zurück, welche weiter zu wuchern vermögen, d. h. kommt es zu einem Rezidiv, so werden dadurch die Abwehrstoffe des Organismus so paralysiert, daß auch an anderen Stellen nachgeimpfte Geschwulstzellen zur Entwicklung kommen können.

Apolant hat unsere Angaben einer Nachprüfung unterzogen und deren Richtigkeit auf Grund seiner Versuchsergebnisse bestritten. Eine genaue Durchsicht der Versuchsprotokolle Apolants ergibt aber, daß diese nicht geeignet sind unsere Befunde zu wiederlegen, sondern daß sie viel eher eine Bestätigung unserer Beobachtungen darstellen. Apolant hat allerdings, wenn ich kurz darauf hinweisen darf, bei 36 operierten Ratten in 8 Fällen Wachstum des sekundär geimpften Tumors gesehen, ohne daß ein Rezidiv aufgetreten war. Es ist dabei aber zu berücksichtigen, daß sich unter diesen 8 Fällen 4 befanden, bei denen die operierten Tumoren erst 14 Tage alt waren, die Operation also zu einer Zeit bereits vorgenommen wurde, wo wie wir ebenfalls experimentell gezeigt hatten, die Schutzstoffe noch nicht so stark im Tierkörper ausgebildet sind, daß durch sie die Entwicklung eines sekundären nachgeimpften Tumors immer unterdrückt werden kann. Es können vielmehr bei einem bestehenden 14 tägigen Tumor, wie wir gezeigt hatten, auch sekundär nachgeimpfte Tumoren in 20—40 Proz. der Fälle angehen. Diese 4 Fälle können somit gegen unsere Befunde nicht verwertet werden. Es kann ferner nicht verwertet werden ein 5. Tier, bei welchem sich zwar kein Rezidiv entwickelt hatte, bei dem aber Lungenmetastasen vorhanden waren. Es bleiben sonach noch 31 von Apolant operierte Ratten übrig, von diesen waren 22 operiert, ohne daß es zu einem stärkere Wachstumstendenz zeigenden Rezidiv gekommen wäre. Von diesen 22 Ratten sind 19 oder 86,2 Proz. gegen Nachimpfung immun gewesen und nur bei 3 oder in etwa 13,4 Proz. wurde das Angehen eines sekundären Tumors ohne Rezidiv beobachtet. Also bei über 86 Proz. dieser operierten Tiere lieferten in diesem Falle die Untersuchungen von Apolant selbst ein Resultat, das unserer Angabe entspricht. Bei den 9 weiteren von Apolant operierten Ratten kam es zum Auftreten eines Rezidivs und in allen 9 Fällen, ebenfalls wieder ganz unseren Beobachtungen entsprechend, auch zum Wachstum des nachgeimpften Tumors, somit hier zu einer Bestätigung unserer Befunde sogar in 100 Proz. Eine weitere Nachprüfung dieser Verhältnisse ist inzwischen in dem Institut für Krebsforschung hier von Meidner vorgenommen, über deren mit den unseren übereinstimmenden Ergebnisse auch von Lewin berichtet wurde.

Meidner hat unter 32 rezidiv frei operierten Ratten nur bei 2 = 6 Proz. Wachstum des nachgeimpften Tumors gesehen, während die übrigen 30 oder 94 Proz. aller Tiere sich gegen die Nachimpfung immun erwiesen. Entsprechend ist es bei den Ratten mit Rezidiven, wenn auch nicht so regelmäßig wie bei Apolants und unseren Versuchen, so doch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle auch zu Entwicklung des sekundären Tumors gekommen, und Meidner kommt zu dem Schlusse, daß seine Versuchsergebnisse den Ausführungen Apolants nicht entsprechen, sondern mit unseren Angaben in Einklang stehen.

Die Arbeit Apolants hat nun auch uns zu einer erneuten Nachprüfung veranlaßt. Da der in Betracht kommende Tumor vorübergehend in seiner Virulenz eingebüßt hatte, so konnten wir die Versuche erst vor verhältnismäßig kurzer Zeit in Angriff nehmen, nachdem es uns gelungen war, ihn



wieder auf die alte Virulenz zu bringen. Immerhin verfügen wir jetzt über ein Material von 31 Fällen. Der Tumor liefert jetzt wieder eine Impfausbeute von ca. 80—100 Proz. Die maximale Größe der Tumoren ist etwa in 4 Wochen erreicht.

Bezüglich der Operationstechnik sei erwähnt, daß wir möglichst leicht operable, subkutan gelegene Tumoren auswählten, die nach Setzen eines Hautschnittes herausgeschält wurden. Von dem Ausglühen der Wunde haben wir wegen des von Apolant erhobenen, unseres Erachtens allerdings unbegründeten Einwandes, daß diese Maßnahmen eine besondere Schädigung der Tiere bewirke, abgesehen, ebenso von der Entfernung größerer Hautpartien. Die Implantation des primären Tumors war teils durch die Spritze, teils mittels der Stückchenmethode an der Brust, die Nachimpfung nur mit der Stückchenmethode am Rücken erfolgt. Alle Tiere wurden sofort mit dem eigenen Tumor nachgeimpft.

Zunächst operierten wir 2 Serien von 5 und 10 Ratten, deren Tumor 4 bzw. 3 Wochen alt waren. Bei 6 dieser Ratten entwickelten sich Rezidive und bei allen 6 kam es zum Wachstum des nachgeimpften Tumors. Bei 9 Tieren traten keine Rezidive und kein Wachstum des sekundär gesetzten Tumors ein. Dasselbe Ergebnis lieferte eine 3. Serie von 8 Tieren, in keinem Falle kam es zur Rezidivbildung oder zur Entwicklung des nachgeimpften Tumors. In dieser Serie waren absichtlich nur 13—15 Tage alte Tumoren gewählt worden, so daß das Wachstum des Sekundärtumors in einem oder dem anderen Falle in dieser Reihe schon möglich gewesen wär. Auch in der 4. Serie hatten wir junge nur 10 Tage alte Tumoren zur Operation benutzt, das Ergebnis war aber auch hier in 4 Fällen beim Fehlen des Rezidivs kein Wachstum des nachgeimpften Tumors, während in den anderen 4 Fällen wieder Rezidiv und Sekundärtumor zur Entwicklung kamen.

Insgesamt sahen wir sonach unter den 31 operierten Ratten bei 10 ein Rezidiv und zugleich Wachstum des nachgeimpften Tumors auftreten, während bei 21 Ratten weder Rezidive noch Sekundärtumoren zur Entwicklung kamen. Bei diesen eindeutigen Ergebnissen kann es sich nicht um Zufall handeln.

Es ist keine Frage, daß in dem Verhalten rezidivfrei und nicht rezidivfrei operierter Ratten gegenüber Nachimpfungen ein auffallender Unterschied besteht. Wenn Rezidive fehlten, kamen die sekundär gesetzten Tumoren nicht oder nur selten zur Entwicklung, wenn Rezidive auftraten, ist das Umgekehrte der Fall.

Wir halten es allerdings für durchaus möglich, daß bei einer anderen Versuchsreihe in dem einen oder dem anderen Fall auch ein anderes Verhalten zu beobachten sein kann und stimmen in dieser Hinsicht Meidner gegenüber Apolant vollkommen bei, wenn er sagt, „die durch völlige Eliminierung der Tumoren frei werdenden Antistoffe müssen nicht immer zur Unterdrückung des Nachimpferfolges ausreichen und nicht jedes Rezidiv muß die Abwehrstoffe so paralysieren, daß der Nachimpftumor angeht.“ Im allgemeinen werden aber solche Fälle nur in einem geringen Prozentsatz vorkommen.

Auch Apolant kann an der Tatsache als solcher nicht vorübergehen, er sagt selbst: „Immerhin ist es auffallend, daß das Gesetz in einem hohen Prozentsatz der Fälle stimmt.“

Der von Apolant aber dafür gegebenen Erklärung können wir nicht beitreten. Nach Apolant soll nämlich bei rezidivfrei operierten Ratten deshalb eine Entwicklung des nachgeimpften Tumors ausbleiben, weil auch



in solchen Fällen keine wirklich radikale Operation stattgefunden habe. Es könnten selbst mikroskopisch kleine Geschwulstnester bei der Operation zurückgelassen sein, die, nachdem sie infolge der Operation unter ungünstigen Ernährungsbedingungen versetzt oder sonst geschädigt sind, resorbiert werden und den Tieren so aktive Immunität verleihen. Bei Ratten, bei welchen Rezidive auftreten, würde eine solche Resorption kleinster Geschwulstmengen nicht stattfinden und deshalb auch keine Immunität ausgelöst werden. Dieser Erklärungsversuch erscheint uns etwas gezwungen. Man kann sich doch wohl nur schwer vorstellen, daß lebenskräftiges und wucherndes Geschwulstgewebe nach der Annahme Apolants überhaupt keine Immunitätsvorgänge anregende oder auslösende Wirkung ausübt, während durch mikroskopisch kleine nekrotisierende Geschwulstmengen eine so ausgesprochene aktive Immunität ausgelöst werden soll, wie wir sie in diesen Fällen vor Augen sehen. Man kann ja nun diese Annahme Apolants experimentell nachprüfen. Wir haben auch entsprechende Reihen angesetzt, leider sind dieselben noch nicht so weit, daß wir deren Ergebnisse schon heute verwerten könnten. In zweiter Linie ist aber auch nicht recht einzusehen, weshalb es gerade nur bei rezidivfrei bleibenden Tieren zur Resorption solcher mikroskopisch kleinster Geschwulstnester kommen soll, bei allen übrigen operierten Tieren aber nicht. Einfacher und wie wir glauben auch zutreffender wird man sich die vorliegenden Verhältnisse in der von Uhlenhuth, Steffenhagen und mir angegebenen Weise vorstellen können. Mögen nun auch die Erklärungen für diese Erscheinung verschieden sein, an der Tatsache als solcher, daß die rezidivfreie Operation genügend ausgewachsener Tumoren des von uns untersuchten Rattensarkoms eine stark ausgesprochene Immunität zur Folge hat, kann wohl nach allen Ergebnissen kein Zweifel sein.

VIII. Uhlenhuth, Dold und Bindseil (Straßburg):

Experimentelles zur Geschwulstfrage bei Tieren.

(Vorgetragen von Dold.)

Die Versuche über Chemotherapie und Tumorimmunität, über die wir Ihnen hier kurz berichten möchten, bilden eine Fortsetzung der schon im Jahre 1908 von Uhlenhuth und Weidanz begonnenen und später von Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen fortgesetzten experimentellen Arbeiten über Tumoren.

Bezüglich der Chemotherapie war das wichtigste Ergebnis der früheren Versuche die Feststellung, daß das Arsen, welches in Form des Atoxyls und später in Form des Arsenophenylglycins gegeben wurde, in kleinen und großen Dosen eine gewisse Wirkung auf das Tumorwachstum ausübt, welche sich aber nicht in der erhofften Wachstumshemmung, sondern im Gegenteil in einer Wachstumsbeschleunigung beim Mäusekarzinom und Rattensarkom äußerte. Blumenthal hat beim Rattensarkom diese Befunde bestätigt, trotzdem glaubt er beim Menschen einen gewissen Erfolg durch Arsenbehandlung beobachtet zu haben. Wir stehen nach den zahlreichen gegenteiligen Erfahrungen im Tierversuch diesen vereinzelten Beobachtungen am Menschen



sehr skeptisch gegenüber. Immerhin war bereits durch diese Versuche gezeigt, daß es chemische Substanzen gibt, welche eine Art Affinität zu den Tumorzellen besitzen.

Unsere neueren chemotherapeutischen Versuche, bei denen wir uns des sachkundigen Rates von Herrn Prof. Hofmeister zu erfreuen hatten, wurden an einem Rattensarkom (dem Bashfordschen Spindelzellsarkom) und einem Mäusekarzinom (dem Ehrlichschen Mäusekarzinom) ausgeführt. Die Substanzen wurden teils intravenös nach der schon vor Jahren von Trommsdorff und Weidanz im Uhlenhuthschen Laboratorium geübten Methode, teils i. p., teils s. c., eingespritzt, z. T. auch inhaliert. Bei der i. p. Einspritzung, welche viele Vorteile vor der i. v. Injektion hat, kommen die Substanzen sehr rasch und in den meisten Fällen unverändert in die Blutbahn, was man daraus ersehen kann, daß z. B. eine mit Eosin i. p. gespritzte Maus schon nach wenigen Minuten das Eosin im Urin ausscheidet.

Wir stellten nun zunächst Versuche mit Jodpräparaten an, und zwar mit:

1. Natrium sozojodolicum,
2. Griserin (Jodoxychinolinsulfonsäure),
3. Jodipin.

Es zeigte sich, daß die Jodpräparate ähnlich wirken, wie die Arsenpräparate, d. h. daß auch sie das Wachstum der Tumoren sicherlich nicht hemmen, sondern eher beschleunigen. Während wir bei dem Mäusekarzinom keinen Einfluß auf den Tumor beobachteten, sahen wir bei dem Rattensarkom eine Beschleunigung des Wachstums.

Ebenso beobachteten wir nach i. v. oder i. p. Einspritzung von Farbstofflösungen, wie Neutralrot und Eosin, niemals eine Hemmung, sondern fast regelmäßig eine Beschleunigung des Tumorwachstums.

Eine ähnliche wachstumsbeschleunigende Wirkung fanden wir nach Injektion von Stibacetin, einem dem Arsacetin analog gebauten Antimonpräparat, welches uns die Chemische Fabrik von Heyden zur Verfügung stellte.

Es ist wohl vorderhand nicht möglich zu sagen, worauf diese wachstumsbeschleunigende Wirkung der genannten Stoffe beruht; beim Arsen und Jod und vielleicht auch bei dem erwähnten Antimonpräparat könnte man an die allgemeine zell-roburierende und -stimulierende Wirkung denken, an der eben auch die Tumorzellen teilnehmen. Bei den Farbstoffen ist uns eine solche allgemeine Zellwirkung nicht bekannt, und man könnte hier vielleicht eine besondere Affinität der Farbstoffe zu den Tumorzellen annehmen.

Wir haben übrigens weder nach i. v. noch nach i. p. Einspritzung der Farbstoffe eine elektive Färbung des Tumorgewebes, also eine hauptsächliche Ablagerung des Farbstoffes in den Tumorzellen beobachtet.

Weitere Versuche wurden mit Fluornatrium, eine andere Serie von Versuchen mit Naphthalin und eine 3. Serie von Versuchen mit Thyreoidin gemacht. Ich stelle diese heterogenen Versuchsreihen hier der Kürze halber zusammen, weil sie alle ziemlich ergebnislos verliefen.

Das Fluornatrium wurde i. v. gegeben, das Naphthalin teils verfüttert, teils inhaliert.

Beide Präparate entfalteten keinerlei Wirkungen auf die Tumoren.

Bei den mit Thyreoidin gefütterten Ratten sahen wir, daß die Tumoren, verglichen mit den Tumoren der Kontrolltiere, im Wachstum zurückblieben



Man kann dies aber auch darauf zurückführen, daß die mit Thyreoidin gefütterten Ratten überhaupt eine allgemeine Abmagerung zeigten. Die Versuche werden fortgesetzt.

Mit Rücksicht auf die kürzlich erschienenen bedeutungsvollen Wassermannschen Mitteilungen untersuchten wir auch die Wirkung des Selens und Tellurs, sowohl allein als auch in Verbindung mit Farbstoffen wie Eosin und Neutralrot.

Während die Farbstoffe allein, wie schon erwähnt, einen gewissen Einfluß auf die Tumoren, aber eher im Sinne einer Wachstumsbeschleunigung ausübten, konnten wir beim Selen und Tellur, welche wir als Natriumsalze und als piaselenolsulfonsaures Kali[1]) i. v. und i. p. verabreichten, keine deutlichen Wirkungen auf den Tumor konstatieren. Auch die kombinierte Behandlung mit Farbstoffen und Selen bzw. Tellur hatte keinen hemmenden oder heilenden Einfluß auf die Tumoren.

Wie aus älteren Untersuchungen von Hofmeister hervorgeht, wird in den Geweben abgelagertes Selen ähnlich wie das Tellur methyliert und in dieser Form durch Ausatmung abgegeben. Danach sind die Gewebe des Tierkörpers für solche flüchtige Selenderivate gut durchlässig und es wurde der Versuch gemacht, umgekehrt durch Zufuhr solcher flüchtiger Verbindungen Selen im Gewebe zur Ablagerung zu bringen. Da Aethylderivate im Organismus ungleich leichter verbrennen als Methylverbindungen, so wurde Aethylselenid benutzt, und zwar in der Weise, daß die Versuchstiere sich dauernd in einer damit geschwängerten Atmosphäre befanden. Eine solche Applikation hatte überdies den Vorzug, von den nur in beschränkter Anzahl ausführbaren intravenösen Injektionen Abstand nehmen zu können. Doch ergab sich auch bei dieser Versuchsreihe weder eine ausgesprochene Beeinflussung des Tumorwachstums, noch auch eine mikroskopisch erkennbare Ablagerung von Selenmetall, obgleich eine Aufnahme des Selens, nach dem Auftreten von Durchfall bei einem Teil der Versuchstiere zu schließen, erfolgt war.

Die einzelnen Komponenten wirken also anders als die daraus hergestellten von Wassermann angewandten, in ihrer Zusammensetzung uns unbekannten Präparate.

Neben diesen chemotherapeutischen Arbeiten haben wir auch die Immunitätsstudien weiter fortgesetzt.

Ausgehend von der Tatsache, daß es Tiere gibt, welche gegen Tumoren refraktär sind, und der Beobachtung, daß man an sich nicht refraktäre Tiere immun machen kann, dadurch, daß man den Tumor irgendwie zum Verschwinden bringt (z. B. durch lokale Pyocyanaseinjektion [„Autoimmunisierung Uhlenhuth"] oder durch radikale Operation) versuchten wir diese Immunität, die durch weitere Nachimpfungen noch gesteigert wurde, auf normale Tiere zu übertragen.

Da man nun nicht weiß, wo die supponierten Immunstoffe sitzen, so haben wir — nach Entblutung, Entfernung der Haare und der Darmeingeweide — die ganzen Tiere verarbeitet und aus ihnen durch Anwendung von 200—300 Atmosphären Druck Preßsäfte gewonnen, welche den normalen Tieren eingespritzt wurden.

Es gelang aber auch auf diese Weise nicht, die Immunität zu übertragen, bzw. die schon im Wachstum befindlichen Tumoren zu hemmen, obgleich

[1]) Die Präparate wurden uns in dankenswerter Weise von der Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel zur Verfügung gestellt.



jedes Versuchstier im ganzen fast den gesamten Preßsaft aus einem Immuntier injiziert bekam. Im Gegenteil: die Tumoren wuchsen unter dieser Behandlung eher noch schneller als die Kontrolltumoren.

Dasselbe gilt von Tieren, die mit dem Serum von Immuntieren behandelt worden waren.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren ähnlichen Versuchen von Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen und wir müssen zusammenfassend sagen, daß so sehr auch manche Beobachtungen für die Bildung von Antikörpern beim Tumorwachstum sprechen, bisher fast alle Versuche, Antikörper nachzuweisen, negativ verlaufen sind.

Ich komme schließlich zu der „Operationsimmunität", wie wir sie kurz bezeichnen möchten. Bekanntlich haben Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen gefunden, daß nach Exstirpation von ca. 30 Tage alten Tumoren die rezidivfrei operierten Tiere sich bei der Nachimpfung immun erweisen, während der nachgeimpfte Tumor angeht, wenn die Operation nicht radikal ist und Rezidive auftreten.

Diese Befunde sind inzwischen von Meidner und — wie wir eben gehört haben — durch weitere Untersuchungen von Händel und Schönburg bestätigt worden.

Auch wir haben diese Versuche fortgesetzt und können die früher gemachten Angaben von Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen nur bestätigen.

Von 15 rezidivfrei operierten Ratten erwiesen sich 12 also 80 Proz., von 18 rezidivfrei operierten Mäusen 16 also 88,9 Proz. bei der Nachimpfung refraktär, während bei den unvollständig operierten Tieren bzw. den Tieren, bei denen Rezidive auftraten, die Nachimpfung stets positiv war.

Faßt man alle bisherigen Versuche über die Operationsimmunität zusammen, so ergeben sich folgende Zahlen:

	rez.-frei op. Tieren	bei d. Nachimpfung refraktär
Uhlenhuth, Händel u. Steffenhagen fanden bei ihren ersten Versuchen	von 55 Ratten	49 = 89,09 Proz.
Gay	„ 8 „	6 = 75 „
Meidner	„ 32 „	26 = 81,2 „
Händel u. Schönburg	„ 21 „	21 = 100 „
Wir	„ 15 „	12 = 80 „
	„ 18 Mäusen	16 = 88,9 „

und selbst bei Apolant, der die Operationsimmunität nicht gelten läßt und seine Versuchsergebnisse in einer — wie uns scheint — gezwungenen Weise im Sinne der von uns nicht anerkannten Ehrlichschen athreptischen Theorie umdeutet, gingen von 24 rezidivfrei operierten Ratten 16 also 62,5 Proz. und von 17 rezidivfrei operierten Mäusen 13 also 76,5 Proz. bei der Nachimpfung nicht an.

Angesichts dieser Zahlen — und ich betone, es handelt sich um übereinstimmende aus 4 verschiedenen Instituten an verschiedenen Tumoren gewonnene Resultate — läßt sich wohl kaum mehr an der Tatsache der Operationsimmunität, welche durchschnittlich 70—90 Proz. beträgt, zweifeln. Wir haben in der Operationsimmunität einen (in der Tumorforschung leider so seltenen) experimentellen Befund, welcher allgemeinere Bestätigung erfahren hat, und der deswegen als sicherer Ausgangspunkt für weitere Forschungen dienen kann.



IX. v. Dungern (Heidelberg):

Ueber Komplementbindungsreaktion bei Karzinom.

v. Dungern bespricht seine Methode der Komplementablenkung bei malignen Geschwülsten, über die schon in der Münchener med. Wochenschrift ausführlich berichtet worden ist.

Die Komplementreaktion mit Organextrakten ist nicht nur bei Syphilis, sondern auch bei einigen anderen Krankheiten anwendbar. Zu diesen gehört neben der Tuberkulose auch das Karzinom. Man hat schon bei Anwendung der Wassermannschen Reaktion, die ja speziell für Syphilis ausgebildet worden ist, gesehen, daß die Sera von Karzinomkranken häufig stärker reagieren als normale. Man kann die Reaktion aber so einstellen, daß die Spezifität bei Syphilis nicht gestört wird. Wenn man die Komplementbindungsreaktion aber speziell für Karzinom ausbildet, so erhält man auch hier positive Reaktionen, die ganz ähnlich wie bei der Syphilis die Sera der Karzinomkranken von denen bei anderen Erkrankungen abgrenzen lassen. Es sind dabei folgende wesentliche Punkte zu beachten: 1. die reagierenden Substanzen des Karzinomserums vertragen das Erwärmen auf 56° weniger als diejenigen bei Lues und Tuberkulose; das Serum muß demnach unerwärmt benutzt werden. 2. Die Komplementbindung durch das Karzinomserum erfolgt langsamer, die Reaktionszeit muß daher verlängert werden. 3. Bei einem gewissen Zusatz von Natronlauge $^{2}/_{10}$ ccm $^{n}/_{50}$ bleibt die Reaktion des Karzinomserums erhalten, während die Hemmung fast aller anderen Sera mit Organextrakt verschwindet. Das Karzinomserum läßt sich dadurch noch leichter von anderen unterscheiden. Auch die syphilitischen werden in der Mehrzahl der Fälle durch diesen Zusatz von Natronlauge negativ reagierend. 4. Das Organextrakt muß richtig ausgewählt und richtig eingestellt sein. Man mußte zunächst daran denken, spezifische Extrakte aus Tumoren selbst zu benutzen. Die Azetonextrakte scheinen die besten zu sein in Uebereinstimmung mit den Resultaten von Kolle und Stiener bei der Wassermannschen Reaktion. Die Extrakte aus Tumorgewebe von der Leiche waren manchmal ebensogut, aber manchmal auch unbrauchbar. Die guten Tumorextrakte reagierten jeweils mit einer großen Anzahl von Karzinomsera, aber nie mit allen; sie sind längere Zeit haltbar, verändern sich nach einigen Wochen aber doch. Die Eigenhemmung nimmt zu und die spezifische Hemmung mit Karzinomserum verringert sich. Es war daher sehr wünschenswert, ein brauchbares Extrakt aus normalem Gewebe zu finden, das jederzeit in gleicher Weise hergestellt werden kann. Ein solches wurde in dem Azetonextrakt aus Menschenblut gefunden. Ueber die Resultate, welche mit diesem Extrakt erzielt worden sind, soll an anderer Stelle (Münchener med. Wochenschrift) ausführlich berichtet werden. Zurzeit ist ein großer Teil der untersuchten Fälle klinisch noch unsicher. Unter 79 sicheren malignen Tumoren reagierten 65 (89 Proz.). Unter 57 absolut sicheren Karzinomen reagierten 50 typisch, 1 Fall reagierte ohne Natronlauge, aber nicht mit Natronlauge: aber hier war die Reaktion schwach. Die Reaktion mit Natron-

lauge ist also recht brauchbar. Bei anscheinend rezidivfrei Operierten kann die Reaktion fehlen oder auch untypisch sein oder typisch vorhanden sein. 1 Fall reagierte 2½ Jahre nach der Operation typisch, ohne daß Anzeichen eines Rezidivs da waren. Wenn man solche Beobachtungen ins Auge faßt, wie sie bei der Pferdeblutkobrareaktion ja auch von v. Graff und v. Zubrycki beschrieben wurden, und außerdem bedenkt, daß schon ganz kleine Epitheliome die Reaktion zeigen können, so wird man auch an die Möglichkeit denken müssen, daß bei den Geschwulstkranken ähnlich wie bei Lues eine Allgemeinerkrankung besteht, welche entweder disponierend wirkt für die Entstehung der malignen Geschwulst oder sie hervorruft. Man sollte, um diese Frage zu entscheiden, soweit wie möglich auch bei den Verwandten und Hausgenossen der Geschwulstkranken die Serumreaktion vornehmen. In zwei Fällen reagierte das Serum typisch positiv, ohne daß eine maligne Geschwulst nachweisbar war. Ob es sich hier um nicht spezifische Reaktion handelte oder ob eine unbekannte Infektion vorliegt, die eventuell mit den bösartigen Geschwülsten etwas zu tun hat, läßt sich vorderhand nicht entscheiden. Man muß solche Fälle im Auge behalten und abwarten, wie sie sich weiter entwickeln werden.

Alle anderen untersuchten Sera von Personen ohne maligne Geschwülste reagierten negativ oder wenigstens nicht typisch positiv. In diesem Material finden sich mehr als 60. 6 syphilitische reagierten auch stark mit erwärmtem Serum, nur eines davon reagierte auch mit NaOH-Zusatz. Das Serum eines Paralytikers war negativ, obgleich es mit Herzextrakt stark nach Wassermann reagierte. Auch bei der Untersuchung mit Tumorextrakten wurde gefunden, daß die Sera bei Paralyse meist negativ reagieren und sich dadurch von denen bei Lues unterscheiden lassen. Mit HCl-Zusatz ($^1/_{80}$ ccm $n/_{50}$) reagierte das Paralytikerserum auch mit Blutextrakt positiv. 19 Sera von Tuberkulose der Knochen, der Lungen, der Haut reagierten überhaupt nicht, nur drei unerwärmt stärker als erwärmt in doppelter Dose. Die Sera der Tuberkulösen reagieren viel besser, wenn man Extrakt aus tuberkulösem Gewebe verwendet. Bei benignen Geschwülsten wurden in der letzten Zeit nur wenige Sera untersucht. Ein cystisches Adenofibrom der Mamma mit starker Mastitis reagierte positiv aber nicht mit NaOH-Zusatz. Bei 3 Fällen von ausgedehnter Lipomatose der Haut war die Reaktion negativ, bei einem weiteren Fall dagegen sehr stark positiv, aber nicht nach dem Typus der Karzinomsera, sondern so wie bei manchen syphilitischen Sera, die erwärmt aber auch mit NaOH reagieren. Ein Serum bei Struma benigna adenomatosa colloides reagierte schwach bei NaOH-Zusatz. Bei einem zweiten Fall von Struma benigna bei einem 13 jährigen Mädchen war nur dann Komplementbindung vorhanden, wenn HCl zugefügt wurde. Da auch die Wassermannsche Reaktion mit Herzextrakt schwach positiv war, kann hier Lues hereditaria angenommen werden. Ein Serum bei Mykosis fungoides war schwach positiv, aber nicht bei NaOH-Zusatz. Ebenso reagierte ein Fall von Leberscirrhose. Alle Sera bei sonstigen geringfügigen Hautkrankheiten waren negativ. Vollkommen negativ reagierten auch 15 Sera von Gesunden.

Nach alledem ist es möglich, die Komplementbindungsreaktion auch für die Sera bei malignen Geschwülsten spezifisch zu gestalten, und wenn man bedenkt, daß die Resultate mit einem einzigen Extrakt, das sich jederzeit leicht herstellen läßt, zu erzielen sind, so kann man schon recht zufrieden sein, wenn auch keine 100 Proz. richtige Diagnosen zu erwarten sind.

Wieweit die Reaktion für die Frühdiagnose verwendbar ist, kann noch



nicht sicher beantwortet werden, da beginnende Fälle meist auch klinisch unsicher sind und man daher erst die weitere Entwicklung abwarten muß.

X. Sticker (Berlin):

Radium und Karzinom.

(Dieser Vortrag erscheint an anderer Stelle.)

XI. Stephan Szécsi (Heidelberg):

Ueber Blutbefunde bei Krebskranken.

Meine Herren! Ich möchte Ihnen kurz über einige Blutuntersuchungen berichten, die ich im Heidelberger Krebsinstitut bei geschwulstkranken Tieren und bei Patienten des Samariterhauses angestellt habe. Während ich bei den Tieren nur morphologische Untersuchungen vornahm, wurden bei den Patienten neben den morphologischen Blutuntersuchungen auch Resistenzbestimmungen gemacht.

I.

Meine Blutbefunde bei geschwulstkranken Ratten bestätigen die von Pappenheim und Hirschfeld gemachten Angaben in ihrem vollen Umfange. Bei kleinen Tumoren — es handelt sich hier um ein Jensensches Rattensarkom — sind die Blutveränderungen kaum beachtenswert und beschränken sich lediglich auf eine Anämie ganz geringen Grades. Wenn die Tumoren größer werden, so steigert sich auch der Grad der Anämie: besonders besteht eine hochgradige Polychromophile. Auch ist eine leichte Anisocytose zu konstatieren, während kernhaltige rote Blutkörperchen fast konstant vermißt werden. Man findet stets eine Vermehrung der lymphoiden Zellelemente, die sehr oft bis zu den Lymphoidocyten zurückgreifen. Nicht selten kommen auch Leukoblasten und etwas seltener auch Myelocyten vor, doch handelt es sich meistens um eine Leukopenie und Vermehrung der lymphoiden Zellen. — Bei Geschwulstmäusen kann von einer Anämie kaum die Rede sein, während eine Leukocytose schon zu konstatieren ist, wenn die Tumoren noch ganz klein sind.

Ich möchte noch bemerken, daß ich bei den Geschwulstratten, wie Hirschfeld, zuerst eine Anämie und dann erst sekundär eine Leukocytose feststellen konnte.

II.

Die Blutuntersuchungen, die ich bei unseren Patienten gemacht habe, beziehen sich zum Teil auf die morphologische Zusammensetzung des Blutes, zum Teil auch auf die Resistenz der roten Blutkörperchen.

A. Allgemeinmorphologische Untersuchungen. Ich untersuchte zunächst das Blut der Patienten des Krebsinstituts ohne Rücksicht auf Art und



Grad des Geschwulstleidens, konnte aber keinen Blutbefund erheben, welcher dem Krankheitsbild irgendwie entsprach, auch konnte ich nichts Charakteristisches im Blute feststellen, was man eventuell zu diagnostischen Zwecken verwenden konnte. Oswald Müller betont in seiner Dissertation, daß der Blutbefund bei Karzinomkranken kein einheitlicher sei, doch — meint er — sei bei den meisten Karzinomatösen der Befund ein charakteristischer, auf dessen Deutlichkeit die Dauer der Erkrankung, die Schwere derselben, die individuelle Widerstandsfähigkeit von Einfluß sind. Müller fand folgende Blutsymptome: Herabsetzung des Hämoglobingehaltes und der Zahl der roten Blutkörperchen, Vermehrung der polynukleären neutrophilen Leukocyten. Ich kann diese Befunde von Müller nur insofern bestätigen, als der Blutbefund bei Krebskranken ein äußerst wechselnder ist. Sowohl der Hämoglobingehalt, wie die Gesamtzahl der roten Blutkörperchen und damit im Zusammenhang auch der Färbeindex schwanken in so weiten Grenzen, daß man daraus keinerlei diagnostischen Schlüsse ziehen kann: wenn ich auch andererseits zugeben muß, daß mit Zunahme der Krankheitserscheinungen, insbesondere wenn sich Metastasen bilden, auch der Blutbefund schwerere anämische Symptome zeigt. In Fällen von ganz fortgeschrittenen Karzinomen ist die Anämie ganz besonders hochgradig, auch nehmen immer mehr die polynukleären neutrophilen Leukocyten zum Nachteil der Lymphocyten an Zahl zu. Nach meinen Untersuchungen glaube ich, daß der Blutbefund im Beginn der Krankheit keine diagnostischen Schlüsse zu ziehen erlaubt und erst mit Zunahme der Krankheitserscheinungen etwas charakteristischere Symptome zeigt.

Es wurde von verschiedener Seite, besonders aber in der französischen Literatur (Ménétrier, Marcorelles), hervorgehoben, daß der Blutbefund bei Magenkarzinomen typisch sei. Speziell weist Marcorelles darauf hin, daß im Laufe dieser Krankheit das sonst einfach anämische Blutbild zu einem perniziös anämischen werden kann. In einer unlängst erschienenen Veröffentlichung hat auch Hirschfeld einen Fall von Sarkom und einen Fall von Karzinom der Gallenblase mit gleichzeitig bestehender perniziöser Anämie veröffentlicht. Auch ich hatte einen diesbezüglichen Fall: leider konnte ich denselben nicht bis zu Ende beobachten, weil der Patient aus Scheu vor der Operation die Klinik verließ. Bei der Aufnahme wurde die Wahrscheinlichkeitsdiagnose eines Magenkarzinoms gestellt, gleichzeitig aber die Diagnose perniziöse Anämie in Erwägung gezogen. Ich untersuchte den Patienten gleich bei der Aufnahme und fand eine hochgradige Anämie: doch konnte ich nichts feststellen, was auf eine perniziöse Anämie schließen ließ. Es war eine typische sekundäre, mehr hypochrome Anämie (Färbeindex 0,8); denselben Blutbefund konnte ich noch bei zwei weiteren Untersuchungen erheben. Die quantitative Zusammensetzung in bezug auf die Leukocyten des Blutes änderte sich nicht: das einzig Auffallende war, daß immer sehr große Megalocyten zu finden waren, die Zahl der Normoblasten und später auch der Megaloblasten nahm zu und das Blut ging langsam von einem hypochromen in ein hyperchromes über. Bei der 4. Blutuntersuchung fand ich einen Färbeindex von 1,4, viele Megaloblasten, eine absolute oligocythämische Oligochromämie und eine deutliche relative Hypercytochromie. Kurz alles deutete darauf hin, daß es sich um eine beginnende perniziöse Anämie handelt. Inzwischen wurde auch die klinische Diagnose definitiv auf Magenkarzinom gestellt, doch verließ, wie ich erwähnt, der Patient die Klinik und konnte nicht mehr untersucht werden.

B. Ueber die Granula der Leukocyten. Als ich noch im Laboratorium von Herrn Prof. Pappenheim in Berlin arbeitete, erfuhr ich von ihm, daß einer seiner Mitarbeiter der aber die Arbeit aus äusseren Gründen vorzeitig abbrechen mußte bei einzelnen Fällen von kachektischem Karcinom eine eigentümliche Veränderung der neutrophilen Granula feststellen konnte, die man mit der Anwesenheit von Antitrypsin im Blut in Zusammenhang zu bringen geneigt war. Ich hatte damals selbst einige wenige Fälle daraufhin untersucht und setzte auf Pappenheim's Anregung meine Untersuchungen in ausgedehnterem Maßstab im Heidelberger Krebsinstitut fort und kam dabei zu folgendem Ergebnis:

Die neutrophilen Granula der polynukleären Leukocyten färben sich bei vorgeschrittenen Karzinomfällen, hauptsächlich aber bei kachektischen, nicht wie gewöhnlich violett-rot und feinkörnig, sondern ganz groß und in einem schmutzigen dunkelbraunen bis schwarzen Ton. Während, wie erwähnt, die morphologischen Blutuntersuchungen bezüglich der mikroskopischen Zusammensetzung des Blutes keine konstanten Resultate ergaben, konnte ich diese Veränderung im Verhalten der neutrophilen Granula fast ausnahmslos in allen vorgeschrittenen kachektischen Karzinomfällen feststellen. Der Befund ist fast konstant, wenn er auch diagnostisch nicht gut verwendbar ist, da er ja nur bei schweren Karzinomfällen vorkommt, wo an der klinischen Diagnose kein Zweifel mehr sein kann. Da wir über den Ursprung, Funktion und Bedeutung der Leukocytengranula noch recht wenig wissen, möchte ich diesen Befund einfach mitteilen, ohne denselben irgendwie diagnostisch verwerten zu wollen.[1])

C. Resistenzbestimmungen der roten Blutkörperchen. Außer den morphologischen Blutuntersuchungen nahm ich in der letzten Zeit Resistenzbestimmungen bei den roten Blutkörperchen vor. Für die Resistenzbestimmung benutzte ich das Saponin und das Cyclamin, von denen ich abfallende Mengen verwandte und dabei feststellte, in welcher Verdünnung sich die roten Blutkörperchen noch eben lösen. Es zeigte sich, daß das Serum — sowohl bei Gesunden wie bei Kranken — eine antihämolytische Wirkung gegen Saponin besitzt, die voraussichtlich auf den Cholesteringehalt zurückzuführen ist. Diese antihämolytische Kraft des menschlichen Serums benutzten Boidin und Flandin, um wenigstens qualitativ den Cholesteringehalt des Blutes zu bestimmen. Ich bestimmte nach der Methode von Boidin und Flandin den Cholesteringehalt des Serums und gleichzeitig mittels Saponin und Cyclamin die Resistenz der roten Blutkörperchen mit und ohne Serum. Die Resistenz der roten Blutkörperchen von Karzinomkranken ist im Vergleich zu der Norm sowohl gegen Cyclamin wie gegen Saponin stark herabgesetzt. Während normalerweise die Werte 0,08—0,1 Proz. betragen, fielen dieselben bei Geschwulstkranken auf 0,005—0,006 Proz. Je schwerer der betreffende Fall war, um so weniger resistent waren auch die roten Blutkörperchen. Ob dieser Befund irgendwie diagnostisch verwertbar sei, muß vorerst unentschieden bleiben, hierzu gehört eine größere Untersuchungsreihe. Ich wollte nur Ihre Aufmerksamkeit auch auf diesen Punkt hinlenken und darauf hinweisen, daß uns vielleicht die Resistenzbestimmung, die in der letzten Zeit etwas vernachlässigt wurde, neue interessante und vielleicht auch praktisch verwendbare Resultate geben kann.

[1]) Aus technischen Gründen war es nicht möglich, wie ich es geplant habe, der Arbeit eine farbige Tafel beizugeben. Eine ausführliche Veröffentlichung — mit den Protokollen meiner Versuche und mit einer farbigen Tafel — erfolgt sehr bald in den Folia haematologica.



2. Tag. 31. Mai 1912 nachmittags.
Vorsitzender: Hahn (Freiburg).

Diskussion zu IV—XI:

Apolant (Frankfurt): Gestatten Sie, meine Herren, daß ich Ihnen zunächst im Auftrage von Exzellenz Ehrlich, der zu seinem Bedauern am persönlichen Erscheinen verhindert ist, über einige Heilversuche Mitteilung mache, die Herr Kollege Keysser auf Wunsch von Herrn Geh.-Rat v. Wassermann am Frankfurter Institut angestellt hat. Unter den 3, von Herrn v. Wassermann zur Verfügung gestellten fertigen Selen-Eosin-Präparaten erwies sich besonders eins als außerordentlich wirksam, da mit ihm in hervorragendem Grade die spezifische Reaktion des Tumorgewebes ausgelöst werden konnte. Wie Sie wissen, besteht dieselbe in einer sehr bald auftretenden Verflüssigung, die den Tumor in wenigen Tagen, um mich des charakteristischen Ausdrucks von Wassermanns zu bedieben „in einen schlaffen Sack" umwandelt. Man hat wohl auch früher schon gelegentlich eine Erweichung dieser Tumoren beobachtet, die sich jedoch stets erst im Laufe von Wochen entwickelte und gewöhnlich nur einzelne Partien des Tumors betraf. Ganz anders hier. Die Verflüssigung geht in wenigen Tagen vor sich, und ihr folgt eine schnelle Resorption, die vielfach zu Autointoxikationen führt. Immerhin überlebt eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Tieren die völlige Resorption und bleibt dauernd rezidivfrei. Bemerkenswert ist, daß die so geheilten Tiere gegen eine folgende Tumorimpfung immun sind. Diese Tatsache hat Exzellenz Ehrlich nicht nur bei den nach v. Wassermann geheilten Tieren, sondern auch an Mäusen nachweisen können, die er selbst schon vor fast Jahresfrist nach eigenen Methoden geheilt hatte.

An einigen der ausgestellten, von Herrn Keysser präparierten Tieren können Sie die einzelnen Stadien des Heilungsvorganges gut verfolgen.

Ebenso wie der makroskopische Heilungsversuch bei diesen Versuchen vollkommen den Schilderungen entsprach, die Herr v. Wassermann seinerzeit gegeben hat, stimmen auch unsere histologischen Befunde im wesentlichen mit den Angaben Herrn v. Hansemanns überein. Ich möchte jedoch betonen, daß die pyknotische Umwandlung der Kerne, die v. Hansemann als charakteristisch für die Selen-Eosinwirkung anzusehen scheint, bei den Mäusekarzinomen ebenso wie bei den Sarkomen und auch bei den Rattentumoren die typische Form der Zelldegeneration darstellt, so daß in der Bildung größerer zusammengeflossener pyknotischer Massen höchstens quantitative Unterschiede zwischen den behandelten und unbehandelten Tieren bestehen. Daß diese pyknotischen Massen aber auch bei nicht behandelten Spontantumoren einen erheblichen Umfang annehmen können, beweist Ihnen eins der ausgestellten Präparate. Nicht immer ist der Tumor in toto degeneriert. Es zeigt sich dann an den Randpartien noch gut erhaltenes wachsendes Geschwulstgewebe. Diese nicht beeinflußten Partien habe ich immer nur am Rand angetroffen, niemals im Zentrum.

Die von Herrn v. Hansemann auf das Mittel selbst bezogene lymphatische Umwandlung der Milzpulpa, die in hochgradigen Fällen zu einer völligen Verwischung der Grenzen zwischen Pulpa und Follikeln führt, haben auch wir beobachtet. Sehr auffallend ist ferner, die ebenfalls schon von v. Hansemann betonte reichliche Vermehrung der Riesenzellen, die in einem der ausgestellten Präparate einen sehr hohen Grad erreicht hat.

Bemerkenswert scheint mir, daß ich in 5 unter 9 Fällen eine deutliche Fettinfiltration der Leber konstatieren konnte, die, wie Sie sich überzeugen werden, zum Teil recht erheblich ist. Aus analogen Erfahrungen, die ich an Tieren gemacht habe, die von Exzellenz Ehrlich mit anderen Methoden behandelt waren, glaube ich einen kausalen Zusammenhang mit der Behandlung annehmen zu dürfen, da es sich ausschließlich um Tiere handelt, die weder mit Milch noch mit fettreicher Nahrung gefüttert wurden. Eine Anhäufung lymphatischer Zellen um die Lebergefäße habe ich in beschränktem Grade wiederholt konstatiert.

Ich darf zum Schluß auch im Namen von Exzellenz Ehrlich, betonen, daß die Wirkung des Selen-Eosins auf die Mäusekarzinome eine außerordentliche und durchaus spezifische ist.

Ich möchte nun mit einigen Worten noch auf die Vorträge der Herren Händel und Dold eingehen.



Es scheint mir, als ob beide Herren die Frage nach der Empfänglichkeit für eine zweite Impfung nach radikaler resp. unvollständiger Entfernung des erstgeimpften Tumors etwas einseitig beleuchtet haben. Wenn auch ohne weiteres zugegeben ist, wie ich das übrigens auch in meiner Arbeit schon betont habe, daß das Uhlenhuthsche Gesetz in vielen Fällen zutrifft, so zeigen doch eben die, wie mir scheint, von allen Untersuchern ziemlich konstant gefundenen Ausnahmen, daß es sich eben nicht um ein absolut gültiges Gesetz handelt, und daß die Deutung der Herren Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen nicht ohne weiteres zu akzeptieren ist, zumal dieselbe nicht geringe biologische Unwahrscheinlichkeiten enthält. Wenn die durch das Tumorwachstum gebildeten Abwehrstoffe des Organismus das Angehen einer zweiten Impfung nach radikaler Operation verhindern sollen, so müßte ein schädigender Einfluß dieser Abwehrstoffe doch auch auf eventuelle Rezidive, sowie überhaupt auf das Wachstum des ersten Tumors nachweisbar sein. Nun ist aber gerade das Umgekehrte das Gewöhnliche, daß nämlich die Rezidive besonders schnell wachsen. Das ist mit athreptischen Vorstellungen aber nicht mit Abwehrstoffen zu erklären, denn die Berechtigung der Uhlenhuthschen Annahme, daß die Zellen des erstgewachsenen Tumors fest geworden sind, ist schon vor vielen Jahren von Ehrlich gegenüber Borrel, der eine ähnliche Anschauung vertrat, damit widerlegt worden, daß ja auch die Nachimpfung stets mit festen Stämmen, da sie ja schon in zahlreichen Generationen gezüchtet sind, vorgenommen werden. Ich glaube, daß die Verhältnisse viel komplizierter liegen, daß man vor allem auch die Möglichkeit stärker in Erwägung ziehen muß, daß eine Anzahl Tiere trotz anfänglich wachsenden Tumors immun sind. Wir haben gerade in letzter Zeit in Frankfurt vielfach walnußgroße und noch größere Tumoren spontan zurückgehen sehen. Das iegt nach unserer Auffassung daran, daß die für das Tumorwachstum disponiblen Nährstoffe nicht in genügender Quantität produziert werden, so daß die Tumoren nur bis zu einer bestimmten Größe wachsen können. Es kommt dann zur Resorption und damit zu einer aktiven Immunisierung, die sich zu der vorhandenen relativen, natürlichen Immunität hinzuaddiert. Darauf beruht es auch nach unserer Meinung, daß zuweilen die Rezidive bei unvollständiger Operation nach kurzem Wachstum verschwinden, wofür in der Arbeit von Meidner mehrere Beispiele angeführt werden können. Ich halte die ganze Frage noch nicht für entschieden und glaube, daß es vor allen Dingen darauf ankommt, sehr zahlreiche weitere Versuche namentlich mit der Nachimpfung solcher Tiere zu machen, deren erster Tumor absichtlich nicht vollständig entfernt worden ist.

Friedberger (Berlin): Im Anschluß an die heutigen Referate möchte ich kurz über einige Versuche mit Mäusekarzinom berichten, die in meinem Laboratorium von Herrn Dr. H. Citron angestellt worden sind. Obwohl das Mäusekarzinom histologisch dem des Menschen völlig gleicht, so nimmt doch speziell v. Hansemann an, daß es von ihm biologisch ganz verschieden sei. Er stützt sich dabei im wesentlichen auf zwei Argumente. Das erste ist die geringe Malignität des Mäusekarzinoms. Das scheint mir jedoch kein Argument von irgendeiner Beweiskraft zu sein. Nehmen wir als Beispiel aus der Bakteriologie die Tuberkulose beim Menschen einerseits, beim Meerschweinchen und bei der Maus andererseits, so haben wir 3 Krankheitsbilder von klinisch ganz verschiedenem Verlauf. Und doch handelt es sich um einen einheitlichen Erreger, um eine einheitliche Krankheit. Ein weiteres Argument von Hansemann besteht darin, daß das Mäusekarzinom im Gegensatz zum Menschlichen in der Regel keine Metastasen bildet. (Nur seltene Ausnahmen vereinzelt beschrieben z. B. von Bashford.) Auch der Tumor, mit dem wir arbeiteten, ein Karzinomstamm des Ehrlichschen Instituts, gab in über 500 Impfungen bei der Maus mit der üblichen subkutanen Methode nicht ein einziges Mal Metastasen. Dagegen traten Metastasen regelmäßig in allen positiv verlaufenden Fällen dann auf, wenn das Impfmaterial nicht subkutan, sondern in die Magenwand mittels einer besonderen Methode eingebracht wurde. Diese besteht darin, daß ein mit Krebsbrei getränkter gerauhter Katgutfaden mittels eines besonderen Instrumentes durch die Magenwand durchgeführt und auf ihr geknotet wird. Daß es sich dabei um die Bildung echter Metastasen handelt, und nicht um die Transplatation innerhalb des Peritoneums verschleppter Partikel, ergibt sich daraus, daß der Faden geschützt innerhalb einer Glaskapillare eingeführt wurde, vor allem aber daraus, daß auch außerhalb des Peritoneums in den Achseldrüsen und in den Inguinaldrüsen sich Metastasen finden.

(Demonstration.) Die histologische Untersuchung ergab die Identität der metastatischen Tumoren mit dem Magentumor, bzw. dem ursprünglichen Hauttumor. Man erhält speziell im Magen Bilder, die nach dem Urteil von Herrn Prof. Pick ganz denjenige beim menschlichen Karzinom entsprechen. Es wurden im ganzen von uns 103 Mäuse mit dieser Methode geimpft, davon überlebten 51 die zweite Woche, und von diesen ist der Tumor bei 16 = 30 % angegangen. Bei allen diesen positiven Fällen, also in 100 %,



waren auch Metastasen der Drüsen und der Leber vorhanden. Die ursprüngliche Absicht, die uns veranlaßte, Tumormaterial direkt in die Magenwand einzuimpfen, waren die, das Verhalten der freien Salzsäure beim Mäusekarzinom des Magens zu untersuchen. Beim Menschen fehlt ja bekanntlich freie Salzsäure, nicht nur beim Magenkarzinom, sondern auch meist beim Karzinom anderer Organe. Ueber das Verhalten bei der Maus liegen Untersuchungen von Copemann und Hake vor, die die gesamten Chloride bestimmten und keine Differenzen fanden. Das Wesentliche aber und Ausschlaggebende ist natürlich die Bestimmung der freien Salzsäure. Die fehlt nun bei der Maus, auch bei der normalen, merkwürdigerweise regelmäßig. Es dürfte das darauf zurückzuführen sein, daß sie bei der starken und ständigen Nahrungsaufnahme sofort wieder gebunden wird. Man hätte nun, ähnlich wie daß beim Menschen geschieht, für die nüchterne Maus ein Probestück konstruieren können bei dem gerade noch freie Salzsäure vorhanden ist. Einfacher aber erwies es sich bei der hungernden Maus eine physische Saftsearetion herbeizuführen. Diese erfolgt tatsächlich sehr leicht, sobald man dem hungernden Tier etwas geräucherten Speck vor den Käfig hält. . Dann zeigt die normale Maus regelmäßig freie Salzsäure, während sie bei Hauttumoren und namentlich bei Magentumore in einer großen Zahl von Fällen wie beim Menschen fehlt.

Händel (Gr. Lichterfelde): Zu den Ausführungen des Herrn Apolant möchte ich nur kurz bemerken, daß es uns bei den heute vorgetragenen Versuchen hauptsächlich darauf ankam, Aufklärung zu erhalten, ob entsprechend unserer Angabe Tumorratten, bei welchen nach der Operation ein Rezidiv zur Entwicklung kommt, sich gegenüber einer Nachprüfung anders verhalten als rezidivfrei operierte Ratten. Diese Aufklärung haben unseres Erachtens die Versuche gebracht. Im zweiten Fall hat die Nachimpfung gewöhnlich keinen, im ersten meist Erfolg. Das Alter des primären Tumors spielt dabei natürlich auch eine Rolle. Jedenfalls wird aber daran, daß rezidivfrei operierte Ratten meist eine stark ausgesprochene Immunität aufweisen, nach den Ergebnissen aller Versuche wohl kaum noch gezweifelt werden können. Was die theoretischen Erklärungen anlangt, so handelt es sich in beiden Fällen nur um Erklärungsversuche. Auf unsere Bedenken gegen die von Herrn Apolant gegebene Erklärung habe ich schon hingewiesen, ich will deshalb darauf hier nicht nochmals zurückkommen und nur noch hervorheben, daß es meines Erachtens auch bei der Annahme einer gewissen Serumfestigkeit des Tumorgewebes, doch nicht als ganz gleichgültig angesehen werden kann, ob diesen unter den besten Ernährungsverhältnissen auf seinem Mutterboden belassen oder von diesem losgelöst durch Transplantation an anderer Stelle unter Bedingungen gebracht wird, die gegenüber dem früheren Zustande sicher eine Schädigung bedeuten.

Emil Epstein (Wien): Bald nach der ersten Veröffentlichung von Dungerns in No. 2 der Münchener medizinischen Wochenschrift Jahrgang 1912 begann ich mit Nachprüfung dieser Methode an dem Patientenmateriale des K. k. Rudolfspitales in Wien. Ich bereitete eine größere Anzahl von Karzinomextrakten genau in den von Professor von Dungern angegebenen Mengenverhältnissen durch 48 stündige Extraktion in 98 % Aethylalkohol bei Zimmertemperatur und eine andere Reihe von Extrakten durch 5 stündiges Extrahieren bei 56° C. Zum Komplementbindungsversuche nahm ich statt Rinderblutkörperchen und Rinderbluthämolysin Hammelblutkörperchen und Hammelbluthämolysin und prüfte durchwegs mit mehreren Extrakten. Die Resultate fielen folgendermaßen aus:

Art der untersuchten Fälle	Zahl der untersuchten Fälle	komplette Hemmung d. Hämolyse	inkomplette Hemmung d. Hämolyse	Vollständige Hämolyse
Normale Fälle	5 (Wassermann neg.)	1	—	4
Tumor? erwies sich bei der Operation als hydrosalpinx)	1 („ „)	1	—	—
Karzinome	12 („ „)	6	2	7
		(Die Resultate waren zum Teile mit verschiedenen Extrakten different.		
Hepatitis gummosa	1 („ pos.)	1	—	—



Durch diese ungünstigen Resultate veranlaßt, wandte ich mich an Professor von Dungern, welcher mir in liebenswürdiger Weise seine modifizierte Methode mit Acetonextrakten noch vor Publikation derselben mitteilte und mir ein Menschenblutkörperchenextrakt zur Verfügung stellte. Die Versuchsergebnisse mit diesen und einigen selbst bereiteten Menschenblutkörperchenacetonextrakten gestalteten sich wesentlich günstiger.

Art der untersuchten Fälle	Zahl der untersuchten Fälle	komplette Hemmung d. Hämolyse	inkomplette Hemmung d. Hämolyse	Vollständige Hämolyse
Normale Fälle	3 (Wassermann neg.)	—	—	3
Lues Sera	3 (,, pos.)	3	—	—
Karzinome	14 (,, neg.)	11	2	1[1])

[1]) Das Serum war 6 Tage, die übrigen höchstens 2—3 Tage im Eisschrank aufbewahrt.

Dold (Straßburg): Herr Apolant hat darin vollständig Recht, daß ich hier nur Tatsachen vorgetragen habe. Einmal habe ich das mit Absicht getan, um dem von seiten der Herren Vorsitzenden wiederholt geäußerten Wunsch nachzukommen, dem Kongresse möglichst nur Tatsachen vorzutragen und dann weil ich glaube, daß die Theorien sich nach den Tatsachen zu richten haben.

Was die Anfrage Herrn Apolants anlangt, wie viel nicht rezidivfrei operierte Tiere in unseren Versuchen bei der Nachimpfung Tumorwachstum zeigten, so kann ich mitteilen, daß bei unseren Ratten von 8 nicht-rezidivfrei operierten Tieren alle 8 bei der Nachimpfung Tumorwachstum aufwiesen. Bei unseren Mäusen kann ich leider eine ganz bestimmte Angabe nicht machen, da diese Versuche von Herrn Bindseil gemacht wurden und ich seine Protokolle nicht hier habe. Soweit ich mich entsinne, handelt es sich um ca. 10 Tiere.[1])

Szècsi (Heidelberg): Gestatten Sie mir einige Bemerkungen zu dem Vortrage von Herrn Dold, sowie überhaupt zu den therapeutischen Versuchen mit Eosin-Selen. Es leuchtet mir nicht ein, weshalb man bei diesen therapeutischen Versuchen das Eosin als vermeintlichen Transporteur gewählt hat. Das Eosin ist ein sehr giftiger Farbstoff, außerdem ist es sauer und greift deshalb zuerst das Plasma, erst nachher und auch dann inadäquat den Kern an. Es wäre logischer als Transporteur einen basischen Farbstoff zu wählen, welcher dann in erster Linie und adäquat das wirksame Selen in die Kerne führen würde. Andererseits muß ich aber zugeben, daß das Eosin als saurer Farbstoff besser diffundiert als die basischen. Bezüglich der verwendeten Eosinmarken erfuhr ich in einem persönlichen Gespräch von Herrn Dold, daß sie das gewöhnlich käufliche Eosin, welches Eosin B A genannt wird, benutzen, doch möchte ich darauf aufmerksam machen, daß das sog. Nitroeosin noch besser diffundiert und wirksamer ist (auch färberisch wirksamer) als das Eosin B A. Bei meinen im Heidelberger Krebsinstitut angestellten Versuchen über die Diffundierbarkeit und färberische Kraft verschiedener sauerer wie basischer Farbstoffe fand ich, daß ein von Schulemann als Vitalneurot bezeichneter basischer Farbstoff absolut ungiftig und wegen seiner hohen färberischen Kraft für solche Versuche sehr geeignet ist. (Der Farbstoff wird von Herrn Dr. K. Hollborn in Leipzig hergestellt.) Ich benütze aber bei meinen Versuchen dieses Vitalneurot, oder jede beliebige andere Farbe, nicht als Transporteur, sondern als Indikator, um zu kontrollieren, wie sich das einverleibte Mittel im Körper verteilt hat. Darauf lege ich ganz besonderen Wert: denn, wenn wirklich das Selen sich als besonders wirksames Mittel gegen Mäusekrebs bewähren sollte, was nach den bisher vorliegenden Versuchen wohl noch nicht als endgültig entschieden anerkannt werden kann, so müßte unsere nächste Aufgabe sein zu versuchen, dieses Selen oder jedes andere wirksame Mittel mit einem möglichst ungiftigen Transporteur zu kombinieren. Letzterer braucht gar nicht selbst ein Farb-

[1]) Es handelt sich in Wirklichkeit um 11 Tiere.



stoff zu sein. Wesentlich wäre, daß er ungiftig sei, erwünscht, daß er eigene spezifische Wirkungen ausübte. Die in unserem Institut ausgeführten Versuche berechtigen zur Hoffnung, daß ein solcher Körper gefunden werden kann.

Vorträge:

I. Küster (Freiburg i. B.):

Untersuchungen über das quantitative Verhalten des Phenols bei der Einwirkung auf Bakterien.

Bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln haben bei weitem die meisten Untersucher sich seither mit der rein praktischen Auswertung der Desinfektionskraft nach herkömmlichen Methoden begnügt: nach bestimmten Zeiträumen wurden von den der Desinfektionswirkung ausgesetzten Keimen Proben entnommen, das etwa anhaftende Desinfiziens entfernt oder unwirksam gemacht und darauf durch Kulturverfahren festgestellt, ob Abtötung der Keime erfolgt war oder nicht. Durch Vergleich von verschiedenen Desinfektionsmitteln bei gleicher Versuchsanordnung gelangte man so zu einer relativen Wertbest'mmung der Desinfektionskraft.

Diese Art der Untersuchungen genügt für praktische Verhältnisse, über die spezielle Art der Wirkung eines Desinfiziens gibt sie keinen Aufschluß, zeigt uns keine Beziehungen zwischen chemisch-physikalischem Aufbau der Desinfektionslösung und dem Bakterienorganismus. Wir sind daher bei der herkömmlichen Prüfungsmethode nicht in der Lage auf Grund analytischer Feststellungen neue wirksame Desinfektionsmittel aufzubauen und gelangen zu keiner absoluten Wertbestimmung der Desinfektionskraft.

Die wenigen Autoren, die seither die Art der Keimabtötung durch Desinfizientien zu erklären, das Wesen der Desinfektion zu ergründen suchten, teilen gewöhnlich die keimtötenden Substanzen in zwei Hauptgruppen ein: die Desinfektion der anorganischen Reihe und die Desinfektionsmittel der aromatischen Gruppe.

Ueber die Wirkungsweise der anorganischen Desinfizientien haben Krönig und Paul grundlegende Untersuchungen durchgeführt. Sie fanden, daß die Desinfektionswirkung der Metallsalz-Lösungen neben der Konzentration des Metallsalzes von der spezifischen Eigenschaft der Salze und des Lösungsmittels abhängig ist. Die Halogenverbindungen des Quecksilbers und die anorganischen Säuren und Basen desinfizieren im allgemeinen nach Maßgabe ihres elektrolytischen Dissoziationsgrades. Die Wirkung der Halogene nimmt mit steigendem Atomgewicht ab.

Von der Wirkungsweise der aromatischen Desinfektionsmittel haben wir bisher nur geringe Kenntnisse. Für das Studium der Theorie ihrer Desinfektionswirkung kommt vor allem das Phenol in Betracht, weil dasselbe bei starker Desinfektionswirkung ein chemisch reiner Körper ist, der nach verschiedenen Methoden quantitativ und qualitativ genau bestimmt werden kann. Die bisherigen Untersuchungen in dieser Richtung sind kurz folgende:

a) 1881 stellte Robert Koch fest, daß die Wirkung des Phenols in öligen und alkoholischen Lösungen fast vollständig verloren geht.

b) Knorre und Wolfhügel fanden, daß Phenol in Oel und Alkohol sich weit besser löst als in Wasser, doch wollen sie das ermittelte Teilungsver-



hältnis erst dann als Ursache der Unwirksamkeit des Karbolöls anerkennen, wenn dasselbe auch für den Uebergang der Karbolsäure in die Mikroorganismen als gültig nachgewiesen ist.

c) 1896 führt Scheurlen aus, daß die Phenolwirkung um so kräftiger sei, je geringer die Hydratbildung in dem betreffenden Lösungsmittel sich gestaltet. Diese Theorie gibt er zusammen mit Spiro in einer weiteren Veröffentlichung wieder auf und entscheidet sich dahin, daß die Wirkung des Phenols entsprechend der zunehmenden Dissoziierung des Phenolmoleküls abnehme.

d) 1898 kommt Spiro und Bruns zu dem Resultat, daß die verstärkende Wirkung eines Salzes für wässerige Phenollössungen ungefähr dem Aussalzungsvermögen parallel geht. Entsprechend bedingen auch Salze, die Phenol nicht aussalzen, keine Erhöhung der Desinfektionswirkung.

e) Als wichtigste Untersuchung über die Theorie der Desinfektionswirkung des Phenols ist die Arbeit von Reichel zu erwähnen. Er fand, daß für das Verhalten des Phenols rein chemisch-physikalische Lösungsmaßgebend sind. Durch Zusatz von Kochsalz zu wässerigen Phenollösungen wird die Phenolverteilung zugunsten der Bakteriensubstanz verschoben und dadurch die erhöhte Desinfektionswirkung erklärt.

f) Endlich wäre noch die Untersuchung von Herzog und Betzel zu erwähnen. Sie behaupten, daß bei der Wirkung von Phenol auf Hefezellen in wässeriger Lösung zwei Phasen zu unterscheiden sind: die erste Phase ist die Verteilung des Desinfiziens zwischen Lösung und Zellen nach dem Adsorptionsgesetz. Sie führt zu einem reversiblen Gleichgewicht.

Die zweite Phase stelle dann die chemische Einwirkung des Desinfiziens auf den Mikroorganismus dar. Ihre Untersuchungen hierüber sind noch zu keinem Abschluß gelangt.

Meine eigenen Untersuchungen habe ich vor 3 Jahren zusammen mit Autenrieth begonnen. Wir fanden damals, daß bei der Einwirkung des Phenols auf Bakterien jeweils eine gewisse Menge des Phenols verschwindet. Variierten wir den Versuch derartig, daß wir zur gleichen Menge gleichprozentiger Phenollösung unter sonst gleichen Versuchsbedingungen die doppelte Menge Bakterien gaben, so war der durch Titration bestimmte Verlust an Phenol zwar größer aber nicht entsprechend dem Gesetz der Multipla doppelt so groß, sondern erheblich geringer.

Versuche, die Frage des Phenolverbrauches auf rein biologischem Wege weiter zu klären und die keimtötende Kraft bestimmter absoluter Phenolmengen mit abgemessenen Bakterienmengen bis zur Erschöpfung quantitativ auszuwerten (Mayer, Inaug.-Diss. Freiburg 1910) ergaben, daß allerdings Beziehungen zwischen absoluter Phenolmenge und der Anzahl der abzutötenden Keime bestanden, eine Gesetzmäßigkeit konnte aber mit dieser einfachen Versuchsanordnung nicht festgelegt werden.

Zusammen mit Bojakowsky stellte ich dann die folgenden chemisch-biologischen Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des Phenols an.

Wir stellten uns auf Agarplatten 24 stündige Massenkulturen von bestimmten Bakterien her, die wir mit möglichst wenig Wasser abschwemmten und durch Schütteln und Glaswolle-Filtration von den gröberen Partikeln befreiten. Diese Bakterienaufschwemmung wurde in abgemessener Menge mit bestimmten Phenollösungen bekannter Konzentration zusammengebracht, geschüttelt, nach verschiedenen Zeiten die Bakterien wieder entfernt und der Phenolgehalt der wässerigen Lösung



bestimmt. Die Phenolbestimmung geschah nach der Methode von Koppeschar. Die geringen Nährboden-Beimengungen die sich in den wässerigen Bakterienaufschwemmungen nicht vermeiden ließen, erwiesen sich in Vorversuchen als bedeutungslos für den Phenolverbrauch. Zur Entfernung der Bakterien aus den wässerigen Phenollösungen verwandten wir das von Heim in die bakteriologische Technik eingeführte Asbestfilter.

Die praktische Wirkung eines Asbestfilters auf eine passierende Phenollösung besteht darin, daß der Asbest eine gewisse Menge des Phenols in seinen Fasern absorbiert und weiterhin eine gewisse Menge in seinen Poren zurückhält. Infolgedessen wird der Phenolgehalt des Filtrates zwar verringert, wenn man aber wiederholt das Filter mit der gleichprozentigen Phenollösung durchspült (für 5 g Asbest etwa 75 g Phenollösung), so wird das betreffende Filter für diese Phenollösung indifferent: ein Phenolverlust läßt sich dann quantitativ nicht mehr nachweisen. Man ist also imstande für die verschiedenen Phenol-Bakterienaufschwemmungen sich indifferente Filter herzustellen und da diese bei sachgemäßer Anordnung vollständig bakteriendicht sind, so ist das Heimsche Asbestfilter außerordentlich geeignet, auch bei quantitativem Arbeiten Bakterien aus Phenollösungen zu entfernen.

Die Resultate meiner Untersuchungen möchte ich Ihnen an der Hand einiger Tabellen, die ausführlich in der Zeitschrift für Desinfektion erscheinen werden, erläutern.

Tabelle III.

Versuch	I				II		
Menge der Bakterien in ccm	50	50	25	25	50	25	25
Anfangskonz. der wässerigen Phenol-Bakt.-Suspension	2,424				2,428		
Konzentration des Phenols nach 24 Stunden	2,385	2,380	2,397	2,393	2,370	2,391	2,386
Unterschied	0,039	0,044	0,027	0,031	0,058	0,057	0,042
Mittelzahl	0,040		0,030		0,060	0,040	

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die 2,4 Proz. wässerige Phenollösung durch 50 ccm Staphylokokkenaufschwemmung eine Abnahme von 40 mmg erfährt, während bei 25 ccm Staphylokokkenaufschwemmung eine Abnahme von nur 30 mmg konstatiert wird. Die Absorption folgt also nicht dem Gesetze der Multipla und es erscheint nicht ausgeschlossen, daß die in wässeriger Phenollösung durch die Bakterieneinheit gebundene Phenolmenge nicht nur von der Phenolkonzentration, sondern auch von dem Verhältnis der absoluten Phenolmenge zur absoluten Bakterienmenge abhängig ist.

Der Versuch zeigt, daß längere Zeit vergeht, bis der Phenolverbrauch durch Bakterien vollständig ist. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist in den ersten 24 Stunden am größten und wird dann rasch kleiner. Eine Abtötung der Keime wurde in diesem Versuch nicht erreicht.

Das Phenol wird beim Verbrauch durch die Bakterien nicht zerstört,



Tabelle IV.

Stunden	16		24 zus. 40		24 zus. 64	
Wachstum	+		+		+	
Flaschen	I	II	III	IV	V	VI
Anfangskonzentr. d. wässerigen Phenol-Bakt.-Suspension	2,510		2,510		2,510	
Konzentr. des Phenols nach der Einwirkung	2,464	2,469	2,453	2,453	2,441	2,444
Unterschied	0,046	0,041	0,057	0,057	0,069	0,066
Mittel	0,040		0,060		0,070	
Abnahme	— 0,040		0,020		0,010	

sondern höchstens labil gebunden. Den Beweis dafür erblickte ich in folgenden Versuchen:

Tabelle VI.

	Rest	5 ccm	Rest	5 ccm	Rest	5 ccm	Rest	5 ccm	Rest	5 ccm
Anfangskonz. des Phenols	1,854		1,857		1,217		2,424		2,841	
Konzentration des Phenols nach der Einwirkung	1,764	1,857	1,800	1,853	1,162	1,212	2,385	2,427	2,785	2,830
Unterschied	0,030	—	0,060	—	0,050	—	0,040	—	0,060	0,01

Unmittelbar vor der Filtration wurden der wässerigen Phenol-Bakteriensuspension 5 ccm entnommen, mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt und nach kräftigem Durchschütteln und nachfolgender Filtration

Tabelle VII.

Stunden	40				plus 24 (zus. 64)				plus 48 (zus. 112)					
Flaschen	Ia	IIa	Ib	IIb	IIIa	IVa	IIIb	IVb	Va	VIa	Vb	VIb	Ic	IIc
Wachstum in Bouillon	sehr schwach		deutlich		sehr schwach		deutlich		steril		deutlich		deutlich	
NaCl Proz.	7 Proz.				7 Proz.				7 Proz.				0 Proz.	
Anfangskonzentr. der wässer. Phenol-Bakt.-Suspension	2,009		1,102		2,009		1,102		2,009		1,102		2,009	
Konzentr. des Phenols nach der Einwirkung	1,940	1,934	1,069	1,074	1,967	1,978	1,074	1,077	1,999	1,994	1,080	1,072	1,970	1,964
Unterschied	0,069	0,075	0,033	0,028	0,042	0,031	0,038	0,025	0,010	0,015	0,022	0,030	0,039	0,045
Mittelzahl	— 0,070		— 0,030		— 0,040		— 0,030		— 0,010		— 0,030		— 0,040	
Zunahme der Konzentration	—		—		+ 0,030		+ 0,00		+ 0,060		+ 0,00		—	



der Phenolgehalt bestimmt. Es ergibt sich, daß alles absorbierte Phenol von den Bakterien wieder abgegeben wird, denn durch Umrechnung des Titrationsergebnisses in den 5 ccm finden wir wieder fast genau die Anfangskonzentration der wässerigen Phenollösung.

Zur Erhöhung der Desinfektionskraft des Phenols wurde in einigen Versuchen der wässerigen Phenollösung Kochsalz zugesetzt.

Aus diesem Versuch ist ersichtlich, daß die Adsorption des Phenols durch Baktieren durch Kochsalz beträchtlich verstärkt wird. Des weiteren ist die Absorption des Phenols bei gleicher Bakterienmenge von der Konzentration der Lösung abhängig. Bei der stärkeren Konzentration, die ein Absterben der eingebrachten Bakterien bedingt, verläuft die Phenolabsorption in einer Kurve, während bei der schwächeren Konzentration, bei der die Bakterien überleben, sich ein Gleichgewichtszustand herausstellt.

Tabelle VIII.

15 Platten. 250 ccm Bakterienaufschwemmung. 11 Flaschen.

Stunden	24			24 (zus. 48)			24 (zus. 72)			24 (zus. 120)				
Flaschen	Ia	IIa	Ib	IIIa	IVa	IIb	Va	VIa	IIIb	VIIa	VIIIa	IVb	Ic	IIc
Wachstum in Bouillon	—	—	stark	—	—	stark	—	—	schw.	—	—	—	schw.	schw.
NaCl Proz.	7 Proz.			7 Proz.			7 Proz.			7 Proz.			0 Proz.	
Anfangskonzentr. der wässer. Phenol-Bakt.-Suspension	2,096		—	2,096		—	2,096		—	2,096		—	2,096	
Konzentr. des Phenols nach der Einwirkung	2,039	2,031	—	2,043	2,046	—	2,068	2,063	—	2,103	2,095	—	2,055	2,062
Unterschied	0.057	0,065	—	0,053	0,050	—	0,028	0,033	—	0,007	0,001	—	0,041	0,034
Abnahme d. Konzentr.	— 0,060		—	— 0,050		—	— 0,030		—	— 0,00		—	— 0,040	
Zunahme d. Konzentr.	—		—	+ 0,010		—	+ 0,030		—	+ 0,060		—	—	

Bei diesem Versuch war die Phenolkochsalzwirkung so stark, daß schon in 24 Stunden bei der höheren Konzentration die Bakterien abgetötet sind. Die Absorption ist 60 mmg und nimmt in den nächsten Tagen wieder ab, bis sie endlich die Anfangskonzentration wiedererreicht. Wir nahmen an, daß mit dem Absterben der Bakterien das Phenol wieder frei wird und wurden durch den folgenden Versuch von der Richtigkeit unserer Annahme überzeugt.

Dauer der Einwirkung	24	48	72	96	144	168	264
Wachstum	+	+	+	+	—	—	—
Anfängl. Phenolkonzentr.				3,669 Proz.			
Gefundene Phenolkonzentr.	3,116	3,613	3,60	3,60	3,605	3,616	3,658
Unterschied	0,053	0,056	0,069	0,069	0,064	0,053	0,011
Mittel	— 0,05	— 0,06	— 0,07	— 0,07	— 0,06	— 0,05	— 0,01
Zunahme					+ 0,01	+ 0,02	+ 0,06



In dieser Tabelle fiel fast der ganze Verlauf der Phenolabsorption in die Zeit der einzelnen Probeentnahme.

Wenn wir an Stelle der lebenden Bakterien durch Chloroform oder Hitze abgetötete Bakterienaufschwemmungen mit wässeriger Phenollösung zusammenbrachten, so trat zwar auch Absorption ein, aber das Phenol wurde von den abgetöteten Bakterienleibern nicht wieder freigegeben.

Aus der Gesamtheit der Versuche ergibt sich, daß bei der Einwirkung von Phenol auf Bakterien eine Verminderung des Phenolgehaltes eintritt. Dieser ist abhängig von der Menge der Bakterien, der Zeit der Einwirkung, von der absoluten Menge, Konzentration des Phenols, sowie dem Zustand der Lösung. Das Phenol wird von den Bakterien nur locker gebunden, nicht zerstört.

Bei genügend wirksamer Phenolkonzentration verläuft die Absorption durch lebende Bakterien in einer Kurve, die ihren Höhepunkt erreicht, wenn alle Bakterien abgestorben sind. Mit dem Absterben der Bakterien wird das Phenol wieder frei und nach einigen Tagen besitzt die wässerige Lösung wieder ihre ursprüngliche Konzentration. Die intensive und nachhaltige Desinfektionswirkung des Phenols ist wahrscheinlich auf diesen Umstand zurückzuführen.

Diskussion:

Eisenberg (Krakau) hat in noch nicht veröffentlichten Untersuchungen eine große Reihe chemisch definierter Körper auf ihren Wirkungsmechanismus bei der Hämolyse untersucht, und sodann, von der Analogie, die Erythrocyten und Bakterien bei Immunitätsvorgängen aufweisen, ausgehend die gewonnenen nicht uninteressanten Ergebnisse auf die Desinfektion übertragen. Für eine Reihe von Körpern wurde zunächst der hämolytische Grenzwert an verschieden konzentrierten Blutaufschwemmungen (z. B. 1 fach und 10 fach) festgestellt. Es ließen sich dabei zwei Gruppen von hämolytischen Stoffen aufstellen. Die zur ersten gehörigen (Phenol, Alkohol, Azedon, Kott, Pyridin, ges. Neutralsalzlösungen, Harnstoff, Chloralhydrat KCN. KCNS. NH_4CNS. NH_3. Anilin) zeigen identische Grenzwerte unabhängig von der benützten Blutkonzentartion, die für zweiten gehörigen (anorganische und organische Säuren, Natroleinicum, Saponin, $HgCl_2$, $AnCl_3$, $KMnO_4$, $CHCl_3$, Kobragift) zeigen mehr oder weniger differente Werte. Eine übereinstimmende Gruppenaufstellung ergab sich in anderen Versuchsreihen, wo zu einer gleichbleibenden Menge des Hämolytikums eine gewisse Blutmenge einerseits auf einmal andererseits fraktioniert mit 10—15 langen Intervallen zugesetzt wurde. Bei den Stoffen der ersten Gruppe erwies sich dabei die Art des Blutzusatzes für den quantitativen Enderfolg irrelevant, bei den Stoffen der zweiten Gruppe sind bei fraktionierten Blutzusatz größere Mengen des Hämolytikums notwendig. Das prägnanteste Beispiel aus dieser Gruppe bildet wohl das $KMnO_4$ von dem bei fraktioniertem Zusatz 12½ mal so viel nötig war für Hämolyse als bei einzeitigem. Was die Deutung dieser Befunde betrifft, so muß man wohl bei den Stoffen der ersten Gruppe entweder einfache Verteilungsprozesse zwischen Medium und Erythrocyten oder komplett reversible Bindungen annehmen — bei den Stoffen der zweiten Gruppe entweder nur teilweise reversible Adsorption oder aber Verbrauch infolge chemischer Umsetzungen zwischen Hämolytikum und Blutkörpercheninhalt, eventuell beides zugleich. Der letztere Fall scheint wohl beim $KMnO_4$ zuzutreffen — das schon in äußerst geringen Mengen Hämolyse bewirkt, sich aber weiterhin mit dem Erythrocyteninhalt umsetzt und dabei stark verbraucht wird, so daß nachträglich zugesetzte Erythrocyten kein Hämolytikum mehr vorfinden — gibt man aber viel Blut auf einmal zu, so tritt uns der erste Prozeß ein, der das ganze Blut auflöst. Es könnte demnach das $KMnO_4$ ein chemisches Prototyp einer „methämolyischen Reaktion" (Bail) abgeben. Endlich seien hier noch Versuche angeführt, die darauf ausgingen, die Reversibilität der eintretenden Bindungen oder Lösungen direkt darzutun; Erythrocyten würden mit den betreffenden Hämolyticis zusammengebracht, nach gewisser Einwirkungszeit (noch innerhalb der Latenzperiode) durch Zentrifugieren davon befreit und es würde nun nach Aufschwemmung in Kochsalzlösung der eventuelle Eintritt oder Ausbleiben der Hämolyse festgestellt. Bei Verwendung einfach lösender Dosen und schnellem Arbeiten gelingt es bei den Stoffen der ersten Gruppe die Erythrocyten zu „retten" — nicht aber bei denjenigen der zweiten Gruppe. Alle diese Befunde haben auch



eine gewisse Bedeutung für die Klärung der Frage nach der Fermentnatur des Komplements. Als eine der gewichtigsten Argumente für diese Hypothese würde die Beobachtung angeführt, daß die Wirkung des Komplements nach der quantitativen Seite nicht von seiner absoluten Menge, sondern lediglich von seiner Konzentration abhängt und daß die zugesetzte Erythrocytenmenge in ziemlich weiten Grenzen variiert werden darf, ohne das Endresultat zu verschieben. Wenn wir dieselbe Erscheinung bei den chemisch wohldefinierten Stoffen der ersten Gruppe wiederfinden, die wohl kaum als Fermente, nicht einmal aber als Katalysatoren gelten können, so wird man wohl dieses Argument fallen lassen und sich nach anderen mehr zwingenden Beweisen umschauen müssen. Ganz ähnliche Resultate und eine übereinstimmende Gruppeneinteilung ergaben Desinfektionsversuche mit den meisten der oben angeführten Stoffe. Die Ausschläge sind hier zunächst geringer, als bei der Hämolyse, was wohl auf die im Vergleich für Menge des Desinfizierens relativ sehr geringe Menge von Bakteriensubstanz zurückzuführen ist. Im großen und ganzen scheinen hier Gesetzmäßigkeiten vorzuliegen, die für die meisten Zellarten Gültigkeit haben dürften.

Bei den Desinfektionsversuchen (zumeist mit *B. typhi*) wurden kurze Einwirkungszeiten von 2—4 Stunden und komplett desinfizierende Konzentrationen angewandt. Die Versuchsanordnung von Küster, der die Versuche mit untertödlichen Konzentrationen vornahm und auf 2—4 Tage ausdehnte, ist vielleicht nicht ganz einwandfrei, indem Vermehrungs-, Anpassungs-, Absterbe-, Autolyse-Vorgänge nicht ausgeschlossen sind, wodurch sehr komplizierte Verhältnisse geschaffen werden, auch entsprechen sie eigentlich wenig der Bezeichnung von „Desinfektionsversuchen".

Küster (Schlußwort): Meine Untersuchungen lassen sich mit denen von Eisenberg nicht wohl vergleichen, da sehr abweichende Methoden in Anwendung kamen. Ich hatte die Frage, ob Lösung bzw. Verteilung des Phenols auf die Bakterien oder lockere Bindung in denselben, noch nicht für spruchreif. Vielleicht kommen beide Vorgänge in Betracht.

II. R. Kretz (Würzburg):

Ueber Bakterienausscheidung durch das adenoide Gewebe des Darmes.

Erkrankung des Darmes vom Blute her ist seit langem bekannt. Die Quecksilberdysenterie nach kutaner Giftresorption ist für sie das klassische Beispiel. Später entdeckt ist die Tatsache, daß das Dysenterietoxin wenigstens im Experimente nur vom Blute her Erkrankung des Darmes bewirkt. Hämatogene Infektion im eigentlichen Sinne des Darmes, speziell des adenoiden oder lymphatischen Gewebes, ist zunächst mehr zufällig gefunden worden. So hat Baumgarten auf der Tagung der pathologischen Gesellschaft in Stuttgart nach intravenöser Injektion von Tuberkelbazillen ausgedehnte Tuberkulose der Darmplaques beim Kaninchen zeigen können. Für den Abdominaltyphus ist durch die immer mehr gefestigte Erkenntnis der primären Bakteriämie die Annahme einer sekundären Infektion des adenoiden Gewebes im Darm immer mehr plausibel geworden. Bei schweren septischen Affektionen gelten die Diarrhöen gleichfalls ziemlich allgemein als Zeichen einer Mitaffektion des Darmes vom Blute her. Andererseits haben die Versuche, über die Ausscheidung von Bakterien, welche ins Blut gelangt sind, bisher zumeist zu dem Ergebnis geführt, daß diese Krankheitserreger wohl im Knochenmark, der Milz, in der Leber deponiert, eventuell auf den serösen Häuten oder durch die Nieren ausgeschieden werden, während man den sicheren Nachweis ihres Uebertrittes in den Darm lange nicht erbringen konnte.

Wie es scheint, ist es Adrian als erstem gelungen nach Injektion von pathogenen Bakterien in die Blutbahn bei Tieren wenigstens die Abschei-



dung von Bakterien im adenoiden Gewebe des Darmes zu finden. Er verwendete Streptokokken, Diplokokken und Milzbrandbazillen und wollte durch den Nachweis der Bakterien im Processus vermiformis des Kaninchens die Analogie plausibel machen, daß ein Influenza-Appendicitisfall, den er beobachtet hatte, auf hämatogenem Wege entstanden sei. Spätere experimentelle Nachuntersuchungen zunächst von Tedesko im Institute von Baumgarten vorgenommen, führten zu keinem ganz eindeutigen Resultate, wenigstens war eine Ablagerung der Bakterien im adenoiden Gewebe des Kaninchendarmes bei einmaliger Injektion ein verhältnismäßig seltener Befund. Durch bakteriologische und anatomische Untersuchungen über die Appendicitis hatte ich nach und nach die Ueberzeugung gewonnen, daß dieser Prozeß in zahlreichen Fällen sicher mit einer Blutinfektion zusammenhänge. Die histologischen Untersuchungen hatten zugleich auch Anhaltspunkte dafür ergeben, daß in derartigen Krankheitsfällen die Infektion des Processus vermiformis erst bei einer länger dauernden oder wiederholten Infektionsgelegenheit auftritt. Eine experimentelle Prüfung dieser Hypothese, die durch Stöber und Dahl in meinem Institute in Würzburg versucht wurde, war auf Grund dieser Ueberlegungen in der Weise angestellt worden, daß die Tiere zuerst mit den betreffenden Mikroorganismen vorbehandelt wurden. Es zeigte sich, daß eine derartige Vorbehandlung zu einer ganz anderen Lokalisation der Bakterien im Tier führt, als die direkte Injektion der Bakterien in dasselbe Tier in unvorbehandeltem Zustande. Es gelang auf diese Weise, wie Sie aus vorgewiesenen Abbildungen sehen, in relativ kurzer Vorbehandlung nach der 6.—8. Injektion von Diplokokken, die in diesem Falle verwendet wurden, eine relativ sehr große Menge in dem adenoiden Gewebe des Darms zur Abscheidung zu bringen. Die Versuchsanordnung war in diesem Fall den Behringschen Experimenten über die Wirksamkeit der Tuberkelbazillen bei intravenöser Injektion im vorbehandelten Rinde nachgebildet, und es hat sich gezeigt, daß analog wie beim Abfangen der Tuberkelbazillen im Lungenkreislauf auch eine Ausscheidung anderer Mikroorganismen im vorbehandelten Tier anderen Gesetzen folgt, als im unvorbehandelten. Bei der Tuberkulose kann die andauernde Infektion selbst den Organismus so verändern, daß er Tuberkelbazillen zum Beispiel im Lungenkreislauf abfängt, und das ist ja der Kunstgriff zur Erzeugung der Phthise, durch Impfung mit sehr wenig oder abgeschwächtem Infektionsmaterial. Etwas Analoges gilt offenbar auch für die Lokalisation von Infektionserregern im Darme und so haben Payne und Poynton in London mitgeteilt, daß Kaninchen, die sie mit einem von einem Rheumatismusfall isolierten Diplokokkus infizierten, nach einmaliger Injektion und nach etwa 10—12 tägiger Inkubationszeit, mit Erkrankungen des Processus vermiformis antworteten, die recht analog den menschlichen, auch durch Peritonitis kompliziert waren. Diese Beobachtungen über den Einfluß der Zeit der erneuten Invasion des Erregers im Tiere auf die Lokalisation der Infektionserreger im befallenen Organismus scheint aber eine allgemeine Bedeutung zu besitzen. So ist z. B. gerade bezüglich der Lokalisationen der gewöhnlichen Erreger im Darm bekannt, daß die von denselben veranlaßten Krankheiten trotz frühester Infektionsgelegenheit nicht im allerersten, sondern erst im späteren Kindesalter auftreten. Etwas Aehnliches ist auch bezüglich der Influenza bekannt, wo die Lokalisationen im Darm namentlich die Influenzaappendicitis (auch Cholecystitis, Endocarditis usw.) nicht bei dem ersten pandemischen Aufflammen der Epidemie sich fanden, sondern erst im späteren



Verlauf der rekrudeszierenden und abgeschwächten Epidemien zur Beobachtung gelangten.

Eine kleine Milzbrandepidemie, die ich in einem der letzten Sommer zu beobachten Gelegenheit hatte, läßt es mir wahrscheinlich erscheinen, daß auch beim Rind der Darmmilzbrand eine etwas mitigierte Form der Infektion gegenüber der akut tötenden Milzbrandsepsis ist, die im Anfang der Epidemie aufgetreten war.

Wenn diese Annahme richtig ist, so konnte man das Auftreten gleichartiger Prozesse, die von ein und demselben Erreger mit verschiedener Lokalisation des Prozesses im Organismus veranlaßt werden, so erklären, daß die gleichmäßig erworbene spezifische Disposition die analoge Lokalisation der Infektionen im Organismus bedingt (Appendicitisepidemie), oder umgekehrt kann derselbe Erreger in einer Ansteckungsreihe verschiedene Krankheitsbilder dadurch erzeugen, daß die spezifische individuelle Komponente nicht bei allen Befallenen die gleiche ist (gleichzeitiges gehäuftes Vorkommen von Pleuritis, Endocarditis und Appendicitis).

Diskussion:

J. Koch (Berlin): Die Ausführungen des Herrn Vortragenden haben mich sehr interessiert, da ich ähnliche Beobachtungen mit verschiedenen Bakterien nach hämatogener Infektion gemacht habe. In einem Sammelreferat „Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Streptokokken- und Staphylokokken-Erkrankungen (Lubarsch-Ostertag 13. Jahrgang, 1909 S. 203) habe ich kurz über Versuche an jungen Kaninchen berichtet, denen ich virulente Streptokokken in die Blutbahn einspritzte. Unter Fieber, Gewichtsabnahme, Diarrhoe, gingen die Tiere im Verlauf von 8—14 Tagen gewöhnlich zugrund. Als häufiger pathologischer Befund war das Bestehen einer starken Enteritis zu konstatieren. Aus dem Dünndarm ließen sich die Streptokokken, zuweilen fast in Reinkultur züchten. Bei der histologischen Untersuchung des Darmes fanden sich die Streptokokken fast stets in den Lymphgefäßen des Darmes, sehr selten in den Blutgefäßen. Zwischen die Drüsen waren vielfach andere Bakterien, besonders Stäbchen, in das Gewebe des Darmes eingedrungen. Die Enteritis im Verlauf einer Streptokokken-Allgemeininfektion junger Kaninchen scheint nach meinen Versuchen ein häufiger Befund zu sein, ebenso bei jungen Hunden, wie ich in meinem gestrigen Vortrage „Ueber experimentell erzeugte Gelenkerkrankungen und Deformitäten“ gezeigt habe. Diese Tatsache gibt die Erklärung dafür, weshalb im Verlauf der Streptokokkeninfektion es so häufig zu Diarrhöen und Darmkatarrhen kommt. Die Versuche sprechen auch für die Annahme verschiedener Kinderärzte, die in der Streptokokkeninfektion der Säuglinge nichts anderes als den Ausdruck einer Allgemeininfektion sehen, während die meisten die Auffassung vertreten, daß die Enteritis das Primäre, die Allgemeininfektion das Sekundäre sei.

Die Ausführungen des Herrn Vortragenden sind aber auch noch für eine andere wichtige Infektionskrankheit von Bedeutung, nämlich für den Typhus. Die fast allgemeine Auffassung geht bekanntlich dahin, daß der Typhusbazillus durch den Mund, die Speiseröhre und den Magen in den Dünndarm gelange, wo er sich zunächst vermehre und von hier aus in den lymphoiden Apparat des Darmes und nach Ueberwindung desselben in die allgemeine Zirkulation, und damit in die inneren Organe, Milz, Leber und Knochenmark gerate. Nach dieser Auffassung müßte es demnach sehr leicht sein, beim Kaninchen, das sich bekanntlich auf hämotogenem Wege leicht infizieren und zum Bazillenträger machen läßt, auch auf intestinalem Wege in gleicher Weise zu infizieren. Mein Mitarbeiter, Dr. Stutzer und ich haben diese Frage näher studiert, indem wir einer großen Anzahl von Kaninchen und 2 Affen nach vorausgegangener Laparotomie zunächst kleine Mengen, z. B. eine Oese, und später große Dosen, in Kochsalz aufgeschwemmte Agarkulturen, direkt in den Dünndarm eingespritzt haben. Die Kaninchen vertrugen einen derartigen Eingriff ausgezeichnet und die weitere Untersuchung von ca. 25 Tieren ergab, daß die Typhusbazillen gewöhnlich innerhalb 24—48 Stunden aus dem Darm verschwanden. Nur bei einem Tier konnten die Bazillen im Blut nachgewiesen werden. Der Darm des Kaninchens ist also imstande, große Mengen virulenter Typhusbazillen zu verdauen. Choleravibrionen gingen ebenfalls im Darm zugrunde, wenn sie den Tieren direkt intestinal eingespritzt wurden,



Allerdings starben eine Anzahl derartig behandelter Tiere später; es fand sich bei ihnen eine ausgebreitete Fettmetamorphose der parenchymatösen Organe, besonders der Leber, wie wir an Sudanpräparaten nachweisen konnten. Sehr wahrscheinlich liegt hier eine toxische Wirkung der im Darm zugrunde gegangenen Bakterien vor, deren Endotoxine von der Darmschleimhaut resorbiert werden und auf diese Weise die parenchymatösen Veränderungen hervorrufen.

Unsere Versuche zeigen, daß ein auffälliger Unterschied besteht zwischen der leichten Infizierbarkeit des Kaninchens auf hämatogenem Wege und der fast unmöglichen bei intestinaler Infektion, auch wenn hier die Bedingungen noch so gute sind und die Wirkung des Magensaftes durch die direkte Einspritzung der Bazillen in den Dünndarm ausgeschaltet wird. Wenn man diese Versuche natürlich nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen darf, so dürften sie doch die Zweifel vermehren, ob wir wirklich im Darm und seinem lymphoiden Apparat die erste Ansiedelung des Typhusbazillus zu suchen haben, oder ob nicht die Auffassung einer primären Bakteriämie mit sekundärer Ansiedelung des Typhusbazillus im lymphoiden Apparat des Dünndarms die richtige ist. An der Tatsache, daß der Typhusbazillus auf dem Wege des Intestinaltraktus in den Organismus gelangt, ist nicht zu zweifeln. Fraglich ist es aber, ob gerade zunächst im Dünndarm eine Ansiedelung und Vermehrung der Bazillen stattfindet und von hier aus eine sekundäre Infektion des Blutes nach Ueberwindung des lymphoiden Apparates erfolgt. Manche Tatsachen sprechen vielmehr dafür, daß die Bazillen schon die Schleimhaut des Mundes, der Tonsillen, des Pharynx durchdringen, auf dem Blutwege in die Milz, Leber, Knochenmark gelangen, wo sie sich zunächst vermehren und daß es erst sekundär zu einer allgemeinen Bakteriämie mit Lokalisation und Ausscheidung im lymphoiden Apparat des Darmes kommt.

Jedenfalls verdient das Studium der Ausscheidung der Bakterien durch den Darm nach hämatogener Infektion eine größere Beachtung wie ihm bisher zuteil geworden ist.

Jacobsthal (Hamburg): Zu der Mitteilung von Herrn Kretz möchte ich darauf hinweisen, daß Darmgeschwüre nach intravenöser Einverleibung von Typhus- und Colidbazillen beim Kaninchen schon lange bekannt sind. In neuester Zeit habe ich die Beobachtung gemacht, daß man durch intravenöse Einspritzung des *Bac. emphysematoses* Fränkel beim Meerschweinchen ebenfalls Dickdarmgeschwüre erzeugen kann. (Neben einer akuten, serofibrinösen Peritonitis.) Es ist nun ganz interessant, daß es unter Umständen möglich ist, nachzuweisen, ob Bakterien primär oder sekundär im Darm aufgetreten sind. Bei einem Typhuskranken der zweiten Woche fand ich, daß die aus dem Blute gezüchteten, sowie die mit dem Harne ausgeschiedenen Typhusbazillen sehr schwer agglutinabel waren, während die aus dem Kote gezüchteten Typhusbazillen sogleich leicht bis zur Titergrenze des Immunserums ausgeflockt wurden. Da wir nun wissen, daß die Bakterien durch Passieren des Organismus schwerer agglutinabel werden können, so beweist unser Befund, daß in diesem Falle die Typhusbazillen nicht aus dem Körper in den Darm, sondern von dem Darm in den Körper gelangt sind.

Hahn (Freiburg): Die Beobachtungen des Herrn Kretz stimmen mit dem überein, was wir jetzt über die Ausscheidung von chemischen Verbindungen namentlich anorganischen wissen. Auch sie werden zu einem großen Teil, wie zum Beispiel Calcium, Eisen, Blei usw. aus dem Blute in den Darm ausgeschieden, und zwar wiederum teilweise in unlöslicher Form. Es besteht daher auch gar kein Hindernis anzunehmen, daß auch andere korpuskuläre Elemente oder organisierte Gebilde auf dem gleichen Wege in den Darm gelangen. Eine große Stütze dürften die Anschauungen des Herrn Kretz in der Tierpathologie finden, wo zum Beispiel nicht selten nach Nabelschnurinfektion bei Kälbern Enteritis beobachtet wird.

Kretz: Ausscheidung der Bakterien — speziell versucht an Streptokokken im Kaninchen — erzeugt an den Mikroorganismen vielfach Bilder von beginnender bis vollendeter extracellulärer Bakteriolyse; vielleicht erklärt sich analog auch die Differenz der Agglutinierbarkeit frisch isolierter Typhusbazillen aus dem Stuhle und Blute.



III. Ph. Eisenberg (Krakau):

Ueber Bakterienfärbung mit sauren und neutralen Farbstoffen.
(Zugleich Beitrag zur Theorie der Gramfärbung.)

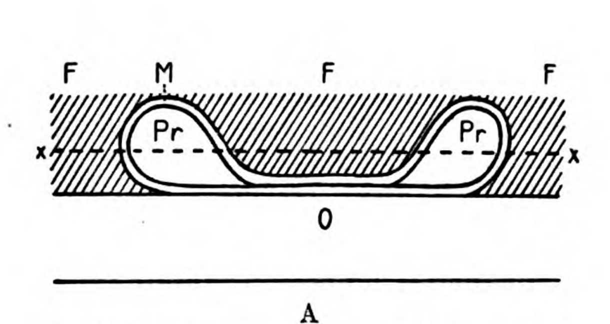
I.

Vor kurzem hat der Berliner Botaniker Hugo Fischer an Stelle der Tusche die Verwendung von sauren Farbstoffen zur Negativdarstellung von Bakterien empfohlen. Die von ihm empfohlenen Farbstoffe Congorot und Nigrosin geben aber, wie ich mich bei einer Nachprüfung habe überzeugen können, recht mittelmäßige Bilder, der Kontrast der nicht sehr kräftigen Grundfärbung mit den farblosen Bakterien ist nicht recht prägnant. Dagegen habe ich mit den farbkräftigen, dunklen, gut deckenden Farbstoffen der Anilinblaupruppe (Chinablau, Bleu de Lyon, Reinblau, Alkaliblau, Wasserblau u. a.) sehr schöne kontrastreiche Bakteriendarstellung erzielen können. Noch besser aber bewährte sich eine Mischung, die aus 3 Teilen gesättigter wässeriger Chinablaulösung und 1 Teil gesättigter wässeriger Cyanosinlösung besteht (beide Farbstoffe bei Grübler erhältlich) und die ich der Kürze halber Cyanochin benannt habe.[1]) Die Mischung soll vor Gebrauch ein paar Tage stehen bleiben; worauf diese „Reifung" beruht, könnte ich momentan nicht erklären. Wie beim Tuscheverfahren wird eine Oese Kulturmaterial oder Bakterienaufschwemmung (oder von sonstigem zu untersuchenden Material — darf nicht zu stark sauer reagieren) mit einem Tröpfchen der durch Aufkochen sterilisierten Mischung verrieben und in dünner Schicht auf den Objektträger ausgebreitet. Das nach einer halben Minute lufttrockene Präparat wird ohne weitere Fixation mit der Immersion untersucht. Auf blauviolettem ganz homogenem Grunde sieht man nun die Bakterien in zweierlei Weise hervortreten. Die einen — fast ausnahmslos grampositive Arten — sind entweder ganz ungefärbt als helle Lücken sichtbar oder aber sie sind vom Cyanosin blaßrosa bis dunkelrosa gefärbt, was ebenfalls einen schönen Kontrast mit dem dunkelblauvioletten Grunde abgibt. Von gramnegativen Bakterien habe ich nur Meningokokken und Gonokokken die Cyanosinfärbung annehmen gesehen, wodurch ihr genetischer Zusammenhang mit anderen grampositiven Kokkenarten ersichtlich wird. Gramnegative Bakterien erscheinen ungefärbt und weisen eine Differenzierung ihres Zellinhalts auf, die derjenigen bei der Tuschemethode (s. Eisenberg, Cbl. f. Bakter. I. Abt. Orig. LVI. 193) analog ist, aber unvergleichlich schöner einen blauvioletten Zentralteil von einem ungefärbten meistens an den Polen verdickten Randteil abhebt. Wie beim Tuschebild handelt es sich auch hier um das Resultat plasmolytischer Vorgänge, die im stark konzentrierten Medium während des Eintrocknens stattfinden. Bei Vibrionen, speziell bei den feineren Arten ist das Bild wegen der Kleinheit des Objekts nur an dünnen Stellen gut festzustellen; man sieht hier im ungefärbten Zelleib dunkle Quersegmente (ähnlich wie in den Fischerschen Abbildungen). Die hellen Stellen ent-

[1]) Die Mischung ist von Dr. G. Grübler, Physiol.-chem. Labor. (Inhaber Dr. K. Hollborn) in Leipzig fertig zu beziehen.

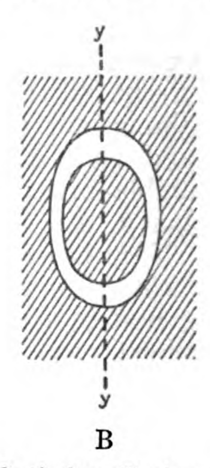


sprechen dem retrahierten Protoplasten, die dunklen einer Ansammlung von Farbstoff an den Orten, wo die leere Membran kollabiert ist (s. Schema). Ein Vorzug der Cyanochinmethode vor dem Tuscheverfahren besteht außer der größeren Prägnanz der Bilder noch darin, daß auch bei Kapselbakterien (Friedländergruppe) plasmolytische Differenzierung eintritt, während sie im Tuschepräparat vermißt wird. Die Schleimhülle der Bakterien tritt bei behutsamer Präparation sehr schön hervor, außerdem sind im Medium sehr deutlich isolierte Schleimflocken zu sehen. Zur Darstellung der *Spir. pallida* eignet sich unsere Methode ebenso wie die Burrische, auch hier muß angesichts der Feinheit des Objekts dringend empfohlen werden, das Präparat sehr dünn auszustreichen. (Ich pflege das mit haardünn ausgezogenen Glasdrähten zu tun, die man sich aus Glasröhrchen in beliebiger



A

A. Vertikalschnitt durch Objekträger und Präparatschicht (y—y der Fig. B)
O = Objektträger
Pr = Prätrahierter Protoplast
F = Farbstoffschicht
M = Membran



B

B. Optischer Horizontalschnitt im Niveau von x—x entspricht dem mikroskopischen Bild

Menge leicht herstellen kann.) Ein weiterer Vorteil, den unsere Methode mit der Burrischen gemeinsam hat, ist der, daß auch in ihrer Färbbarkeit stark lädierte Bakterien mit ihr noch zur Darstellung gelangen und interessante Details der Struktur aufweisen. Sporen sowie Fettröpfchen heben sich als leuchtend weiße ungefärbte Gebilde sehr schön vom restlichen rosagefärbten Zelleib der Bazillen ab. Präparate können nicht nur von Bakterienkulturen, sondern auch von Sekreten und anderen Materialien hergestellt werden.

Soweit die praktische Seite der neuen Methode — doch auch nach der theoretischen hin bietet sie manches Interessante. Wir sehen vor allem, daß eine Reihe von Bakterien, und zwar grampositive Arten sich mit dem Cyanosin färben (die Färbung ist unter diesen Umständen auch mit allen anderen Farbstoffen der Phthaleingruppe möglich und wurde das Cyanosin wegen der Intensität der Färbung gewählt). Das legt die Annahme nahe, daß die Membran dieser Bakterienarten für das Cyanosin durchlässig ist, während diejenige der anderen ihm den Eintritt verwehrt. Man könnte dann diese Beobachtung zusammenhalten mit dem von A. Fischer erhobenen Befund, daß grampositive Arten für verschiedene Krystalloide permeabel sind, gramnegative impermeabel. Eine weitere interessante Tatsache ist die,

daß gramnegative Arten ihr ablehnendes Verhalten gegenüber dem Cyanosin unter dem Einfluß verschiedener schädigender Agentien wie Eintrocknen, feuchtes Erhitzen auf 60—70° C, Trockenerhitzung auf höhere Grade, Altern der Kultur, Einwirkung von Alkohol, Azeton verändern können, indem sie sich mattorangerosa anfärben. Es würde dies Verhalten auf die Labilität der Durchlässigkeitsverhältnisse der Bakterienmembran hinweisen, die wohl eng an die Vitalität der Keime gebunden sind. Auch grampositive Arten, die sich mit dem Cyanosin nicht färben, können durch Erhitzen dazugebracht werden.

Eine weitere theoretisch interessante Beobachtung an den Cyanochinpräparaten ist die, daß grampositive Bakterien (einerlei ob sie sich mit dem Cyanosin färben oder nicht) eine dunkle Zone von angehäuftem Farbstoff um sich herum aufweisen, während um die gramnegativen nichts derartiges zu sehen ist und der ganz homogen gefärbte Grund bis an sie herantritt. Diese Erscheinung, die ich vorläufig mit dem nichts präjudizierenden Namen der „Attraktion" benennen möchte, ist wohl auf Ausflockung des Farbstoffs im Kontakt mit der Membran der grampositiven Arten zurückzuführen und beweist wieder einmal eine physikalisch-chemische Differenzierung beider nicht nur färberisch, sondern auch biologisch ganz verschiedenartigen Bakteriengruppen. Das Phänomen ist am besten an dünneren Stellen des Präparats zu beobachten.

II.

Die soeben mitgeteilten Erfahrungen mit der Cyanochinfärbung waren für mich Veranlassung, der Frage der Bakterienfärbung mit sauren Farbstoffen näherzutreten. Abgesehen von beiläufigen Bemerkungen von A. Fischer sowie Pappenheim, sowie von der interessanten Methode von Gasis, gilt in bakteriologischen Lehrbüchern das Dogma, daß Bakterien nur mit basischen Farbstoffen zu färben sind. Die eingehende Untersuchung zeigte, daß es mit sehr vielen, wenn auch nicht mit allen sauren Farbstoffen gelingt, die Bakterien darzustellen, und daß manche dieser Färbungen den schönsten und intensivsten mit basischen Farbstoffen an Prägnanz, Intensität sowie Echtheit nichts nachgeben. Ein Unterschied zwischen den gut färbenden (nicht alle tun es ja) basischen Farbstoffen und den sauren besteht darin, daß man bei den letzteren zum Erhitzen oder Beizen greifen muß, um Bakterien darzustellen, sonst ist die Färbung zu schwach oder gelingt überhaupt nicht. Als Beizen kommen angesichts der sauren Natur der Farbstoffe verschiedene anorganische oder organische Säuren, saure Salze, Alaun, Pikrinsäure, seltener Schwermetallsalze, Phenol in verschiedenen Konzentrationen in Anwendung. Je stärker die Farbsäure, desto stärkere Beizen (H_2SO_4 bis zu 10 Proz.) kann man verwenden; auch hier scheint der Zustand der „Schwebefällung" (Unna) die Intensität der Färbung besonders zu begünstigen. Von den schöneren Färbungen möchte ich hervorheben diejenigen mit Chinablau, Reinblau, diversem Alkaliblau, Wasserblau, Patentblau, Rotblau, Brillantschwarz, Palatinschwarz, Dianilblau, Diaminblau, Echtrot, Lichtgrün, Guineagrün, Naphtylaminbraun. Theoretisch interessant ist das Ergebnis der Färbung mit „wasserlöslichem Corallin" (Natriumsalz der p-Rosolsäure, Provenienz Grübler, Merck, Kahlbaum); hier erfolgt die Färbung nicht im Tone des Farbsalzes (rot), sondern in demjenigen der Farbsäure (orangegelb), es erfolgt also Spaltung des Salzes,



und die Farbsäure wird absorbiert, ohne chemisch mit dem Protoplasma im Sinne der chemischen Theorie zum Farbsalz sich umzusetzen.

Daß tatsächlich mit sauren Farbstoffen sich intensive Färbungseffekte erzielen lassen, beweist wohl am besten die Tatsache, daß mit relativ vielen von ihnen Sporenfärbungen sich ausführen lassen. Ebenso wie bei basischen Farbstoffen findet man auch hier, daß man nur mit erhitzten Farblösungen zum Ziel gelangt. Hier wie dort macht man die interessante Beobachtung, daß es meist hellere linksspektrale Farbstoffe sind, die sich dazu eignen (wohl eine Folge der physikalischen Struktur der Sporen), also von basischen Fuchsin, Pyronin, Malachitgrün, Jodgrün, Methylviolett, nicht dagegen die extrem rechtsspektralen Nachtblau, Viktoriablau, Gentianablau, Methylenblau, Fuchsia u. a. — von sauren Farbstoffen Rubin δ, Azorubin, Chromotrop 4R, Aurantia, Bordeaux, Bordeaux R, Ponceau R, Brillantcrocein, Azogelb, Viktoria-Scharlach, Neucoccin, Echtbraun G, Naphtolorange α oder β (alle bisherigen in schwefelsaurer Lösung), Ponceau 6RF und Echtrot mit Alaun als Beize, Cyanosin mit Phenolbeize — wie wir sehen lauter gelbe, orangerote bis rotbraune Farbstoffe. Zur Differenzierung benutzt man einfach eine Gegenfärbung mit einem entsprechend gewählten sauren oder basischen Farbstoff, man kann auch den Bazillenleib entfärben, indem man (wie bei basischen Farbstoffen) nach einer noch nicht publizierten Methode den Farbstoff mit $KMnO_4$ in seine farblose höhere Oxydationsstufe verwandelt. Zu dem Zwecke gebrauche ich eine mit Phosphorsäure angesäuerte Lösung, wie sie Hetper für analytische Zwecke angegeben hat ($^n/_2$ $KMnO_4$ in 5 proz. H_3PO_4) in 5—25 facher Verdünnung je nach dem Farbstoff, die ich 10 Sekunden bis 2 Minuten je nach dem Fall einwirken lasse. Als besonders schöne Kombination sei empfohlen: Färbung mit erhitzter ges. wässeriger Lösung von Naphtol-Orange α (Kahlbaum) (angesäuert mit 0,5 proz. H_2SO_4) 1—2 Minuten, Wasserspülung, Nachfärben mit 2 proz. Malachitgrün (Chinagrün) 1—2 Minuten, Wasserspülung: Sporen orangegelb, Bazillen grün. Man kann aber auch (ebenso wie bei basischen Farbstoffen) einzeitige Sporendoppelfärbung ausführen, indem man einen sporenfärbenden sauren Farbstoff mit einem anderen sauren kombiniert, dem das Sporenfärbungsvermögen abgeht, natürlich in passenden Mengenverhältnissen. Als Beispiel sei folgende Mischung angeführt: ges. wässerige Lösung von Bordeaux (Merck) 18 T., 1 proz. Chinablaulösung 1 T., konz. H_2SO_4 1 T. — Färben unter Erhitzen 1 Minute, Wasserspülung: Sporen ziegelrot, Bazillen blaßblau. Mit manchen dunklen Farbstoffen der sauren Gruppe (Säurecyanin, Chinablau, Reinblau, Alkaliblau 5B, Wollschwarz, Wollschwarz 4B) gelingt es außerdem bei entsprechender Differenzierung nicht die ganzen Sporen, sondern gewisse „Sporeninnenkörper" darzustellen, über deren Bedeutung ich mich vorläufig noch nicht äußern kann (dasselbe gelingt unter gewissen Umständen mit Karbolfuchsin, Pyronin, Methylviolett).

III.

Weisen schon die letztgenannten Tatsachen darauf hin, daß die Färbung mit sauren Farbstoffen keine bloße färberische Spielerei ist, sondern unsere Kenntnisse über die Struktur der Bakterien vielleicht bereichern kann, so ist das noch mehr der Fall bei den Erfahrungen, die ich über die Gramdifferenzierung der Bakterien gemacht habe. Verschiedene Arbeiten der letzten Jahre haben uns gelehrt, in den Ergebnissen dieser Methode etwas



mehr als einen rein äußerlichen, wenn auch willkommenen diagnostischen Behelf zu erblicken — nämlich den Ausdruck eines differenten physikalisch-chemischen oder chemischen Aufbaus, der auch für das biologische Verhalten der betreffenden Bakterienarten von großer Bedeutung sein kann. Gramnegative Arten sind plasmolysierbar, sind (nicht alle) bakteriolytisch im Sinne des Pfeifferschen Phänomens zu beeinflussen, sind trypsin- und laugenschwach, empfindlicher gegenüber Antiseptizis, Erhitzung u. dgl. — grampositive verhalten sich umgekehrt. Um über die Gründe dieser tiefgreifenden Differenzen Aufklärung zu erlangen, muß man vorerst trachten, den Mechanismus der färberischen Differenzierung zu eruieren.

Ich habe in einer früheren Arbeit (Cbl. f. Bakter. I. Abt. Orig. LVI. 193) bereits zeigen können, daß außer dem Methylviolett eine Reihe anderer, speziell dunkler Farbstoffe, außer dem Jod der Lugolschen Lösung eine Anzahl anderer Beizen, die mit den betr. Farbstoffen komplexe Verbindungen eingehen, zur Gramdifferenzierung sich eignen. Es wird nun nicht ohne Interesse sein zu erfahren, daß auch eine Reihe dunkler, saurer Farbstoffe zu demselben Zweck dienen können. Den eklatantesten Fall bietet wohl das Wollschwarz (Grübler), das beim Färben mit erhitzter gesättigter Lösung ohne nachträgliches Beizen oder Differenzieren die grampositiven Bakterien blauviolett, die gramnegativen hauchartig grauviolett (meist unter Hervortreten von plasmolytischen Bildern) darstellt. Andere Farbstoffe geben die Differenzierung, wenn man mit (meist beizenhaltiger) erhitzter Lösung färbt und dann mit Güntherschem Salzsäurealkohol differenziert, wobei der Alkohol differenzierend und die HCl belebend (avivierend) auf die dem Alkohol widerstehende Färbung der Grampositiven einwirkt. Als solche Farbstoffe seien angeführt: Chinablau, Reinblau, Wollschwarz 4 B (alle mit H_2SO_4), Alkaliblau (mit Phenol oder Pikrinsäure), Guineagrün (ohne Beize), Patentblau A (ebenso). Wohlgemerkt spielen die Beizen hier nicht dieselbe Rolle, wie bei der Gramfärbung mit basischen Farbstoffen das Jod oder die Pikrinsäure, die Komplexverbindungen mit den Farbstoffen eingehen, während es hier lediglich um Verstärkung des Färbeeffektes sich handelt.

Theoretisch noch interessantere und färberisch prägnantere Resultate gibt die Verwendung von neutralen Farbstoffen. Dieselben sind bis jetzt wohl mit Unrecht in der Histologie relativ wenig berücksichtigt worden mit Ausnahme des Ehrlichschen Triazids sowie der Romanowsky-Färbungen und ihrer Modifikationen, die in der Protozoologie und Blutfärberei eine souveräne Rolle sich erobert haben. Doch auch hier handelt es sich um sehr komplizierte färberische Vorgänge, von denen die Einwirkung des neutralen Farbstoffs nur einen Teil bildet. Die neutralen Farbstoffe, komplexe Verbindungen von Farbbasen mit Farbsäuren — ob chemische, ob Adsorptionsverbindungen, sei dahingestellt — sind meist recht wenig wasserlöslich, lösen sich (nicht immer) in einem Ueberschuß von Farbsäure oder Farbbase, in Alkohol, Chloroform, Xylol und anderen Lipoidsolventien, auch in Glyzerin. Diese Löslichkeitsverhältnisse beeinträchtigen natürlich die direkte Verwendbarkeit der neutralen Farbstoffe (ich habe Smaragdgrün-Pikrat zur Färbung von Fetteinschlüssen bei Bakterien angewandt) und man hat dem abzuhelfen gesucht durch Lösung in Ueberschüssen (Triazid) oder durch Entwicklung der neutralen Farbstoffe auf dem zu färbenden Substrat. Hierher gehört eine Ersatzmethode für das Gramverfahren, die Claudius vor 15 Jahren angegeben hat und die pikrinsaures Methylviolett verwendet. Ich habe sodann in der bereits erwähnten Arbeit gezeigt, daß an Stelle der Pikrin-



säure auch andere saure Farbstoffe wie Viktoriagelb, Martiusgelb, Safrosin zur Bildung des neutralen Farbstoffs in den Gramersatzmethoden herangezogen werden können.

Diese Erfahrungen waren für mich der Ausgangspunkt für meine gegenwärtigen Versuche, das Prinzip der Gramdifferenzierung mit neutralen Farbstoffen auszuarbeiten. Will man neutrale Farbstoffe auf dem Präparat erzeugen, indem man die Komponenten nacheinander einwirken läßt — bei gleichzeitiger Einwirkung entsteht der Niederschlag zumeist in der Farbflotte, nicht im Substrat —, so muß man der eventuellen Lösung des Komplexes durch einen Ueberschuß der zweiten Komponente vorbeugen. Berücksichtigt man dabei die von Teague und Buxton eruierten Gesetzmäßigkeiten, so erscheint es am zweckmäßigsten, zunächst einen hochkolloidalen farbstarken Farbstoff als ersten einwirken zu lassen — und dann einen schwächer kolloidalen entgegengesetzten Vorzeichens als zweiten. Von basischen Farbstoffen erwiesen sich als am allgemeinsten und besten anwendbar zur Vorfärbung: Nachtblau, Viktoriablau, Gentianablau 6B (in 50 proz. Alkohol), nur in besonderen Fällen Methylviolett, Fuchsin, Safranin, Chrysoidin, von sauren Farbstoffen Chinablau, Reinblau, Alkaliblau, Patentblau A, Palatinschwarz 6B, Wollschwarz, Wollschwarz 4B. Als sekundäre Farbstoffe benutzt man am besten hellere Farbstoffe, also gelbe, rote oder grüne, bei basischer Vorfärbung saure, bei saurer basische. Beide Farbstoffe wirken entweder ein paar Minuten in der Kälte (Wasserspülung dazwischen) oder 1 Minute lang unter Erhitzen. Beizen sind nicht notwendig, da ja der sekundäre Farbstoff gewissermaßen eine Beize abgibt für den ersten (oder umgekehrt). Zur Differenzierung dient bei schwächerer Färbung ohne Erhitzen Alkohol, bei stärkerer mit Erhitzen Salzsäurealkohol. In manchen Fällen besorgt bereits der nachfolgende saure Farbstoff die Differenzierung (z. B. unten in 6). Die resultierenden Färbungen behalten entweder den Farbton der Vorfärbung (eventuell vertieft) oder es zeigt bereits ihre Nuance, daß der erste Farbstoff durch Anlagerung des zweiten umgewandelt worden ist (grüne Färbung aus blauem und gelbem, violette Färbung aus blauem und rotem Farbstoff). Die Färbungen sind sehr prägnant, die gramnegativen Bakterien erscheinen entweder ungefärbt oder — was praktisch noch empfehlenswerter — ganz blaß aber noch sichtbar — zuweilen im Ton der Sekundärfarbe gegengefärbt. Beispielsweise seien hier folgende Kombinationen mitgeteilt:

1. 1proz. wässeriges Chinablau erhitzen 1′, Wasserspülung, 1proz. alkoholwässeriges Fuchsin erhitzen 1′, Differenzierung mit Güntherschem HCl-Alkohol 1′, Wasserspülung.

2. 1proz. alkohol-wässeriges Nachtblau erhitzen 1′, Wasserspülung, gesättigtes wässeriges Viktoria-Scharlach erhitzen 1′, Alkohol 1′, Wasserspülung.

3. 1proz. alkohol-wässeriges Viktoriablau 4R erhitzen 1′, Wasserspülung, gesättigtes wässeriges Azosäuregelb erhitzen 1′, Alkohol 1′, Wasserspülung.

4. Gesättigtes Gentianablau 6B in 50proz. Alkohol erhitzen 1′, Wasserspülung, gesättigtes wässeriges Aurantia erhitzen 1′, Alkohol 1′, Wasserspülung.

5. Nachtblau 1proz. alkohol-wässeriges 2′, Wasserspülung, gesättigtes wässeriges Naphtol-Orange α 2′, Wasserspülung, Alkohol 1′, Wasserspülung.

6. 1proz. alkohol-wässeriges Kristallviolett 5′, Wasserspülung, gesättigtes wässeriges Chrysolin ganz kurz, Wasserspülung (kein Alkohol mehr!).

Die Zahl der möglichen Kombinationen ist natürlich eine sehr große und ich zweifle nicht daran, daß der weitere Ausbau der Färbung mit neutralen Farbstoffen speziell in der Form der Sukzedanfärbung sowohl in der Bakteriologie, als auch in der Protozoologie und sonstigen Histologie noch manches interessante Resultat zeitigen wird.

IV.

Im Anschluß an die Färbung mit neutralen Farbstoffen, die ja ins Gebiet der „Entwicklungsfärbungen" gehört, möchte ich noch eine neue Methode mitteilen, bei der ebenfalls der Farbstoff auf dem Substrat entwickelt wird, aber diesmal aus ungefärbten Komponenten. Eine derartige Färbung, in der technischen Färberei viel angewandt, ist meines Wissens in der Histologie nur einmal von Unna versucht worden (Vesuvin-Entwicklung). Hier handelt es sich um die Entwicklung von sog. Anilinschwarz durch Oxydation von Anilin. Ich bringe auf das Präparat Anilinwasser, setze dazu die gleiche Menge 5proz. wässeriger Chromsäure, mische durch Schwenken und lasse stehen; nach einer halben Minute wird das gelbe Gemisch grün, dann dunkelgrün undurchsichtig — nach längeren Stehen schwarzgrün. Gießt man es nach etwa 5 Minuten vom Präparat weg, so ist dieses von einer dunkelgrünen Schicht bedeckt, die Bakterien erscheinen schwarzgrün überfärbt, auf grauschwärzlichem feinstgranuliertem Grund mit mehr oder weniger zahlreichen Farbstoffniederschlägen. Will man reine Präparate haben, so muß man entweder die Färbung nach etwa 1 Minute unterbrechen, bevor noch starke Niederschlagsbildung eingetreten ist oder aber das überfärbte Präparat durch Lösungsmittel differenzieren. Anilinschwarz (als Base) ist schwer löslich und muß man die Differenzierung mit erhitztem reinem Anilin oder verflüssigtem (90proz.) Phenol besorgen. Es gelingt aber auch eine Gramdifferenzierung zu erlangen, indem man eine halbe bis eine Minute lang mit erhitzter 50 proz. Ameisensäure reduziert. Grampositive Bakterien bleiben dunkelgrün, gramnegative schwachgelb. Der Färbung haftet noch der Uebelstand an, daß die aufbewahrten Präparate (durch Nachwirken der Ameisensäure?) mit der Zeit abblassen, doch wird sich dem vielleicht noch abhelfen lassen.

V.

Und nun noch ganz kurz zur Theorie der Gramfärbung. Meine hier dargelegten Befunde wie auch andere noch zu publizierende bekräftigen die bereits früher von mir (loc. cit. S. 198) ausgesprochene Ansicht, daß Lipoidlöslichkeit der Beizen sowie ihre Fähigkeit, mit den basischen Farbstoffen großmolekulare schwerlösliche Verbindungen einzugehen, eine große Rolle dabei spielt". Die grampositiven Arten besitzen eine besondere (adsorptive?) Affinität für dunkle, großmolekulare Farbstoffe (seien es basische oder saure), färben sich mit ihnen intensiver und halten sie bei Entfärbungsprozeduren kräftiger fest, als die gramnegativen. Mit Wollschwarz gelingt es, die Differenzierung auch ohne Entfärben zu erlangen, mit Alkoholdifferenzierung mit Viktoriablau (speziell Thymenviktoriablau), Chinablau, Alkaliblau, Patentblau. Die Einführung von Beizen wie Jod oder Pikrinsäure (oder anderen in meiner zitierten Arbeit erwähnten) verfolgt den Zweck, die Farbstoffmoleküle noch zu vergrößern und damit die nicht immer genügend prägnanten Differenzen zu steigern und anschaulicher zu machen. Zu demselben Endresultat führt

die Umwandlung von basischen resp. sauren Farbstoffen in neutrale, deren großes Molekül nur dem Protoplasma der grampositiven Arten adäquat erscheint. Damit ist natürlich nur der färberische Mechanismus des Gramverfahrens dargetan, die intime Ursache, die die darin sich kundgebenden Differenzen bedingt, ist noch nicht aufgeklärt und zukünftige Forschung muß die Entscheidung bringen, ob dies auf dem Wege der Hypothesen von A. Fischer sowie Kruse, derjenigen von Brudny oder der von mir aufgestellten am besten zu erreichen ist.

Dagegen möchte ich zu einem in jüngster Zeit aufgestellten Deutungsversuch Stellung nehmen, der von richtig beobachteten Tatsachen ausgehend zu falschen Schlüssen geführt hat. Aronson stützt sich auf die Tatsache, daß grampositive Bakterien durch längere Extraktion mit Trichloräthylen die Gramfestigkeit einbüßen und stellt die Hypothese auf, daß dieselbe durch den Fettgehalt der grampositiven Arten bedingt wird. Zu dieser Grundtatsache ist zunächst zu bemerken, daß Trichloräthylen vielleicht kein indifferentes Extraktionsmittel darstellt, sondern durch abgespaltenes Chlor Oxydationsvorgänge auslösen könnte, die bekanntlich (Guerbet, Mayer und Schaeffer, Verf.) zum Verlust der Gramfestigkeit führen. Den Mechanismus der Gramfärbung stellt sich A. folgendermaßen vor: Unter Mitwirkung von lipoidähnlichen Beizen werden die Bakterien stark mit Methylviolett angefärbt. Bei der nun folgenden Lugol-Behandlung werden die fetthaltigen grampositiven Bakterien von der wässerigen Jodlösung nicht benetzt und behalten ihre Methylviolettfärbung, die dann auch der Alkoholextraktion standhält. Die nicht fetthaltigen Gramnegativen dagegen lassen das Jod eindringen, es bildet sich das Jodadditionsprodukt, das dann leider vom Alkohol herausgelöst wird. Es ist nun zunächst zu bemerken, daß auch mit sauren meist gar nicht lipoidlöslichen Farbstoffen ohne Mithilfe von lipoidlöslichen Beizen die Gramdifferenzierung erlangt werden kann. Sodann ist die Behauptung, daß Jod aus wässeriger Lösung in Fett nicht eindringt, völlig aus der Luft gegriffen und man kann sich jeden Augenblick leicht vom Gegenteil experimentell überzeugen. Auch wäre es ja, wie ich schon früher bei Besprechung der Fetthypothese (loc. cit. S. 197) geäußert habe, schwer verständlich, wieso sich fetthaltige und dadurch in wässerige Lösungen unbenetzbare Bakterien so schnell und üppig vermehren könnten, wie viele grampositive es tun; dazu wäre ja die Behinderung des Stoffaustausches zu groß. Wäre die Aronsonsche Hypothese richtig, so müßte man ja erwarten, die grampositiven Bakterien im Ton des Methylvioletts gefärbt zu sehen; wie ein Blick auf ein Grampräparat lehrt, ist das nicht der Fall, die Färbung ist vielmehr eine blauschwarze, erfolgt also im Ton der vom Protoplasma festgehaltenen Jod-Methylviolettverbindung (wie man sich auch leicht an Löschpapierstreifen überzeugen kann).

Die Umwandlung des Methylvioletts erfolgt eben in allen Bakterien, wie die mikroskopische Kontrolle vor der Alkoholdifferenzierung zeigt, und damit fällt der zweite Teil der Aronsonschen Hypothese, auch wenn der erste, was noch nicht der Fall ist, bewiesen wäre. Die Behauptung, eine alkoholische Jodlösung sei für die Gramfärbung unbrauchbar, ist unrichtig; es wird dadurch nur die Färbung erschwert, weil hier Methylviolett herausgelöst wird, noch bevor es das Jod hat binden können — bei starker Vorfärbung mit erhitztem Karbolgentiana läßt sich auch diese Schwierigkeit überwinden. Die Beobachtung von Aronson endlich, der in jungen Kulturen grampositiver Arten sehr viele gramnegative Exemplare gefunden

haben will und diese Erscheinung auf noch nicht erfolgte Fettbildung zurückführt, läßt sich meines Erachtens viel einfacher damit erklären, daß Aronson in diesen Kulturen viele degenerierte noch nicht zur Vermehrung gelangte Individuen der Einsaat vor sich gehabt hat. An wirklich jungen Individuen hat Grimme und auch ich gerade erhöhte Gramfestigkeit beobachtet. Die Fettablagerung in Milzbrandbazillen (auch in vielen anderen) in Form von Körnchen hat mit der Gramfestigkeit, die den ganzen Bazillenleib betrifft, sicher nichts zu tun, die Fetteinschlüsse sind vielmehr gramnegativ (A. Mayer, Grimme).

IV. Markl (Triest):

Ueber die Cholera im österreichischen Küstengebiete im Jahre 1911.

Ich möchte mit einigen Worten über Beobachtungen berichten, welche wir anläßlich der Cholerainvasion in das österreichische Küstengebiet im vorigen Jahre gemacht haben und die vom epidemiologischen und bakteriologischen Standpunkte besonders interessant erscheinen.

Oesterreich war bereits im Jahre 1910 durch den Bestand der Cholera in Apulien und in Ungarn ernstlich bedroht. Trotzdem ereigneten sich damals nur 16 Cholerafälle, davon nur ein einziger im Küstengebiete. Dieser betraf einen Passagier III. Kl., der im Oktober aus Apulien über Venedig, wo er sich über eine Woche lang aufgehalten hatte, anscheinend gesund in Triest eingetroffen war. Nach einer durchgeschwärmten, an Exzessen aller Art reichen Nacht ist er arretiert worden und erkrankte im Gefängnisse an Cholera.

Im vorigen Jahre kam die erste Meldung über Cholera aus Graz. Der Fall betraf einen aus Venedig zugereisten Postbeamten. Italien galt zu jener Zeit offiziell als cholerafrei und alle Gerüchte, welche das Gegenteil behaupteten, wurden dementiert. Das offizielle Dementi sollte aber bald durch schlagende Beweise widerlegt werden.

Am 5. Juni war der Auswandererdampfer der Cunard-Linie „Saxonia" von New-York via Neapel in Triest eingetroffen mit einem akuten Brechdurchfall an Bord, welcher von den Schiffsärzten auf Fleischvergiftung zurückgeführt wurde. Der Patient starb im Laufe von 12 Stunden und die Obduktion und bakteriologische Untersuchung ergaben Cholera als Todesursache.

Am 24. Juni kam ein analoger Fall auf dem ebenfalls aus New York via Neapel in Triest eingetroffenen Auswandererdampfer der Austro-Americana „Oceania" bei einer Passagierin II. Kl. vor. Ihm folgte am 5. Tage der Beobachtung ein Cholerafall bei einer Passagierin 3. Kl. nach. Wir haben uns alle Mühe genommen, die Aetiologie dieser Fälle festzustellen, aber umsonst. Weder die „Saxonia" noch die „Oceania" haben in Neapel mit dem Lande verkehrt. Es wurde nur Kohle in „sospesa pratica" aufgenommen. Desgleichen sollen keine Nahrungsmittel und kein Obst in Neapel eingeschifft worden sein. Dafür will man beobachtet haben, daß in Neapel viele Fliegen auf das Schiff gekommen waren. Ich registriere bloß diese Tatsachen, ohne daraus irgendwelche Schlüsse zu ziehen.



Auf diesen Dampfern haben wir zum ersten Male die bakteriologische Untersuchung auf Bazillenträger inauguriert und damit die sanitäre Behandlung der choleraverseuchten Schiffe in neue Bahnen gelenkt. Auf der „Saxonia" wurden diese Untersuchungen noch in beschränktem Maße „autour des malades" ausgeführt, während bei der „Oceania" die ganze Besatzung, beinahe 400 Personen zweimal hintereinander untersucht wurde. Die Untersuchung ergab bei „Saxonia" einen, bei der „Oceania" drei Vibrionenträger.

Der erste Cholerafall in Triest wurde am 12. Juni bei einem Uhrmacher festgestellt, der seit Jahren die Stadt nicht verlassen hatte. Aetiologisch nahm man einen Verkehr mit ausländischen Seeleuten an, ebenso wie bei den nachfolgenden Erkrankungen, welche durchwegs Einheimische betrafen.

Die kleine Triester Epidemie, welche binnen 4 Wochen 42 Erkrankungen mit 16 Todesfällen verursachte, nahm von dem Marktplatze auf Ponte rosso ihre Verbreitung, wo im Canale grande zahlreiche Trabakeln mit Nahrungsmitteln italienischer Provenienz lagen und wo in einem Volkskaffee Seeleute und Marktweiber verkehrten. Es ist fast sicher, daß bei der Triester Epidemie eine Kontaktinfektion durch Vibrionenträger im Spiele war, da, wenn die Infektion durch Gemüse italienischer Provenienz erfolgt wäre, die Epidemie sicher viel größere Dimensionen angenommen hätte. Akademisch ist selbstverständlich diese Infektionsart nicht von der Hand zu weisen. Wir haben diesbezüglich Laboratoriumsversuche angestellt und feststellen können, daß sich Choleravibrionen auf verschiedenen Gemüse- und Obstarten über 3 Wochen lang lebensfähig erhalten. Selbst das Waschen des Gemüses und die Zubereitung mit Oel und Essig, wie es bei den Salatarten üblich ist, schädigt die Choleravibrionen in keiner Weise.

Als nachgewiesen ist die Kontaktinfektion anzusehen bei der kleinen Epidemie, welche in der Ortschaft Bertocchi bei Capodistria vom 30. Juli bis 14. Oktober 12 Erkrankungen mit 6 Todesfällen forderte. Die Ersterkrankungen betrafen Personen, welche mit ihren Feldprodukten auf den Triester Markt kamen. Derselben Provenienz dürften 2 Cholerafälle sein, die Anfangs August in Muggia sich ereigneten.

Ein Cholerafall in Cittanuova wurde am 20. August von Italien eingeschleppt.

Zur Zeit der Triester Epidemie kamen 4 Cholerafälle in Süddalmatien in Cattaro zur Beobachtung, deren Genese entweder auf Verkehr mit italienischen Barken, oder mit Ankömmlingen von Montenegro zurückzuführen ist.

Ein zweiter Herd entstand in Dalmatien Ende August auf der Insel Arbe. Es kam bloß zu 6 Erkrankungen, welche wahrscheinlich auf Infektion aus Fiume zurückzuführen waren.

Interessant ist die kleine Epidemie in der Ortschaft Torre, die von 12. bis 22. Oktober 11 Erkrankungen und 6 Todesfälle forderte. Es war naheliegend die Genese auch in diesem Falle auf den Schiffsverkehr zurückzuführen, zumal in dem nahen Hafen Val di Torre, woher sich die Bewohner auch mit Trinkwasser versorgen, zahlreiche Barken aus Venedig verkehrten. Aber es ist nicht gelungen, den Nachweis dafür zu erbringen. Die Brunnen von Val di Torre, obwohl ganz primitiv, unbedeckt und jeder Verunreinigung zugänglich, erwiesen sich frei von Choleravibrionen und von den Hafenarbeitern, welche im steten Verkehr mit den italienischen Barken waren, erkrankte niemand.



Wir haben in Cittanova ein bakteriologisches Laboratorium errichtet, worin die Mannschaft sämtlicher, aus Venedig ankommenden Segler auf Choleravibrionen untersucht wurde (721 Untersuchungen) — aber mit negativem Erfolge.

Endlich sind die 2 letzten Cholerafälle in Isola bei Triest zu erwähnen, die Mitte Dezember zur Beobachtung kamen und ätiologisch unaufgeklärt geblieben sind.

Im ganzen kamen in Oesterreich im vorigen Jahre 88 Cholerafälle zur Beobachtung, wovon 80 auf das Küstengebiet entfielen und durchwegs auf die Kontaktinfektion zurückzuführen sind.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß bei der Entstehung der Cholerafälle gesunde Vibrionenträger im Spiele waren. Wir haben im Seeverkehre dieser Tatsache in ausgiebigem Maße Rechnung getragen, indem wir die Provenienzen von Venedig und Albanien, sowie alle verdächtige Fälle der bakteriologischen Untersuchung unterzogen. Auf diese Weise haben wir die Trabakeln „Mimo", „Bandiera Moro" und „Stella" als cholerainfiziert erkannt und auf den Trabakeln „Candida" und „Villafranca" Vibrionenträger ermittelt.

Vom klinischen Standpunkte ist zu erwähnen, daß wir einige Fälle von Cholera sicca beobachtet haben, wo anfangs nur Erbrechen, aber keine Durchfälle bestanden.

Die charakteristischen Reiswasserstühle waren nicht in allen Fällen vorhanden. Oft waren die Durchfälle gallig gefärbt, einmal war der Stuhl mit Blut vermischt, wie bei der Dysenterie.

Die Vibrionenträger boten oft keine Krankheitserscheinungen dar und selbst der Kot war fest geformt.

In einigen Fällen bestanden leichte Durchfälle, in anderen bildete sich später das Bild der Cholera aus.

Wir haben auch versucht die Ausscheidung der Vibrionen durch Darreichung von Yoghurt, Calomel und salinischen Mitteln zu beeinflussen. Die beiden erstgenannten Mittel scheinen diesbezüglich günstig zu wirken.

Vom bakteriologischen Standpunkte bietet die Choleradiagnose in der Praxis keine besonderen Schwierigkeiten dar. Die Anreicherung in Peptonwasser leistete uns stets gute Dienste. Die Anreicherung in der Galle scheint keine Vorteile zu bieten. Wenn die Untersuchung des Peptonwassers negativ ausgefallen war, dann haben wir in der Regel auch mit den Dieudonné-Platten kein positives Ergebnis erhalten. Ausnahmen kommen aber doch vor und zwar bei sehr geschädigten Vibrionen (in alten Stühlen bei Ammoniakentwicklung).

Bei unseren fast 3000 Untersuchungen haben wir 21 Vibrionenstämme isoliert, von welchen 20 echte Cholera waren, während einer durch fehlende Agglutination und hämolytisches Vermögen bei bedeutender Virulenz für Versuchstiere sich als choleraähnlich charakterisiert. Ich möchte betonen, daß keiner von unseren Cholerastämmen hämolytisch wirkte. Der hämolysierende Stamm wurde von einem Maschinisten des Dampfers „Adelsberg" isoliert.

Das mit diesem Stamme erzeugte Immunserum agglutinierte die El-Tor- sowie einige Cholerastämme in geringem Grade. Es ist also anzunehmen, daß der Stamm einige Rezeptoren besitzt, welche auf Choleraagglutinine passen und durch Immunisierung angereichert werden, wie ich es seinerzeit auch bei den El-Tor-Vibrionen erklärt habe.



unmittelbare Ursache sein können. Diese Anschauung konnte ich bei einem epidemieartigen Kakkeausbruch in einem Gefängnis in Korea völlig bestätigen. Diese Erfahrung wird an einer anderen Stelle publiziert.[1]) Eine große Rolle spielt sicher auch die individuelle Disposition. Ich werde hier nur einige Beispiele aus meinen Tierversuchen hinzufügen.

Die Dauer bis zum Ausbruch der Erkrankung und der Prozentsatz der Erkrankten bei der Reisfütterung sind nach den Tierarten und Geschlechtern sehr verschieden. Nach meinen Versuchen sind die Tauben sehr empfänglich und am meisten disponiert zur Paralyse. Hühner sind weniger disponiert als Tauben. Affen scheinen nur wenig disponiert zu sein; Hunde waren empfänglicher als Affen bei meinen Versuchen. Natürlich kommt es hier viel auf die Rassen der Tiere an.

Die motorische Lähmung bei Tauben tritt entweder an den Beinen, den Flügeln oder seltener auch am Halse ein. Diese Symptome treten schon in der 3.—4. Woche bei der Fütterung mit poliertem Reis auf und die Tauben sterben dann in 3—5 Tagen. Diejenigen Tauben aber, welche in den genannten Terminen keine Paralyse zeigen, sterben schließlich durch die allgemeine Ernährungsstörung an Marasmus, ohne je Lähmungserscheinungen gezeigt zu haben. Die Erkrankung an der Paralyse scheint nicht nur nach der Individualität, der Geschlechter, dem Alter der Tauben, sondern auch nach den Jahreszeiten des Versuches und nach dem Ernährungszustand vor dem Versuche verschieden zu sein. Bei Hühnern und bei anderen Tieren kommt es sicher auf die Rasse an. Bei einem Versuch z. B. zeigten zwei unter den drei Hühnern (Minorca) nach 4 Wochen bei der Reisfütterung schon ganz typische Paralyse an den Beinen, während ein drittes über 4 Monate lang vollkommen gesund und im Ernährungsgleichgewicht blieb, abgesehen von einer im Beginn der Reisfütterung eingetretenen leichten Abmagerung. Bei Affen erkrankten weniger als $^1/_3$ der von mir geprüften an der Paralyse. Ebenso kommt auch beim Auftreten der Kakke beim Menschen die individuelle Disposition in Betracht.

2. Heilversuche der experimentellen Paralyse bei Vögeln und die Beziehung zur allgemeinen Ernährung.

Von verschiedenen Seiten wurde der Einwand erhoben, daß der Paralyse bei Tieren stets eine allgemeine Atrophie vorangeht, während diese bei der Menschenkakke sehr gut fehlen kann. Weil der Stoffwechsel beim Menschen und die Funktion der Organe sehr kompliziert sind, so wird es a priori nicht erwartet, bei den Tierversuchen, besonders bei Vögeln ein ganz identisches Bild in jeder Beziehung zu bekommen. Als ich aber feststellte, daß die wirksame, d. h. die Paralyse verhindernde — von mir „Perikarpin“ genannte — im Silberhäutchen vom Reis vorhandene Substanz im warmen Alkohol extrahierbar ist, dieser Extrakt sehr gut zur Einspritzung angewandt werden kann und auf diese Weise die therapeutischen Versuche an Vögeln auf die genaueste und bequemste Weise geprüft werden können, so habe ich es unternommen, einige Versuche an Hühnern auszuführen, um den Zusammenhang zwischen der Paralyse und der allgemeinen Ernährung weiter zu studieren.

Der Alkoholextrakt von Kleie wurde folgenderweise dargestellt:

700 g Kleie wurden in 5 l 0,2 proz. HCl-Lösung eine Nacht über extrahiert und dann filtriert. Das Filtrat wird mit NaHO neutralisiert; der dabei entstandene Niederschlag (Phytin) wird abfiltriert. Die

[1]) Archiv für Schiffs- u. Tropenhygiene, 1912.



klare gelbliche Flüssigkeit wird auf Wasserbad durch Luftstrom abgedampft und getrocknet. So bekommt man eine gelbbräunliche harzartige Masse, welche wiederholt durch den Zusatz von warmem absoluten Alkohol extrahiert wird. Auf diese Weise wurden 200 ccm Alkoholextrakt gewonnen. 1,0 ccm desselben entspricht also 3,5 g Kleie und ca. 40 g Reis. Bei der Einspritzung wird der Extrakt auf Wasserbad abgedampft und der Alkohol fortgejagt; der Rückstand wird dann im Wasser gelöst.

Drei Hühner wurden mit poliertem Reis gefüttert. Zwei davon zeigten nach etwa 8 Wochen eine deutliche, sehr typische Paralyse an den Beinen. Die Vögel stützten sich mit dem Rumpf auf den Boden zwischen beiden gelähmten Beinen, deren Zehen infolge der Lähmung der Streckmuskulatur nach innen eingeschlagen sind. Beim Anstoßen konnten sie nicht davonlaufen und fielen nach vorne um. Sie hatten etwa $^1/_4$ des Körpergewichtes verloren. Den weiteren Verlauf werde ich in 6 Perioden geteilt darstellen.



No. 10. No. 11.

Fig. 1. Beide Vögel zeigen die deutliche Paralyse an den Beinen.

Tabelle I.
Huhn No. 10 (Minorca).

	Datum	Körpergewicht	Fütterung	Alkoholextr. von Kleie ccm injiziert	Bemerkungen
	20. II. 11	1850	pol. Reis	—	
			,,	—	
I. Periode	15. IV.	1380	,,	—	Paralyse an den Beinen; Gang unmöglich.
	16.	1375	,,	2,0	kein Appetit.
	17.	1365	,,	2,0	,, ,,
	18.	1375	,,	2,0	frißt wenig; munter.
	19.	1430	,,	2,0	Paralyse besser.
	20.	1405	,,	2,0	Appetit gut.
	21.	1410	,,	2,0	,, ,,
	22.	1410	,,	2,0	,, ,,
	23.	—	,,	—	
	24.	1425	,,	2,0	Gang sicher
	25.	1410	,,	2,0	ganz gesund.
	26.	1425	,,	2,0	,, ,,
	27.	1470	,,	2,0	,, ,,

Periode	Datum	Körpergewicht	Fütterung	Alkoholextr. von Kleie ccm injiziert	Bemerkungen
II. Periode	28.	—	,,	—	
	29.	—	,,	—	stützt den Körper mit ausgespreizten Beinen.
	30.	—	,,	—	deutliche Paralyse.
	1. V.	1350		2,0	,, ,,
	2.	1345		2,0	,, ,,
	3.	1220	Fütte-	2,0	Paralyse besser, Gang sicher.
	4.	1270	rung	2,0	,, ,, ,, ,,
	5.	1220	ausges.	2,0	heruntergekommen.
	6.	1135		2,0	stark abgemagert.
	7.	—		—	,, ,,
III. Periode	8.	1000	pol. Reis	2,0	hochgradige Abmagerung, liegt auf einer Seite.
	9.	1040	,,	4,0	kein Appetit.
	10.	1035	,,	4,0	Appetit erschienen.
	11.	1065	,,	2,0	kann aufstehen.
	12.	1065	,,	2,0	,, ,,
	13.	1070	,,	4,0	munter.
	14.	—	,,	—	,,
	15.	1080	,,	3,0	,,
	16.	1080	,,	4,0	ganz gesund.
	17.	1135	,,	4,0	,, ,,
	18.	1075	,,	4,0	,, ,,
	19.	1090	,,	4,0	,, ,,
	20.	1080	,,	4,0	,, ,,
IV. Periode	21.	1080	,,	—	
	22.	1070	,,	—	
	23.	1040	,,	—	kein Appetit.
	24.		Reis und	—	frißt Rübenblätter sehr gerne.
		1045	Rübenbl.	—	
	25.	1065	,,	—	frißt Rübenbl.; aber nur wenig Rei
	26.	1110	,,	—	,,
	27.	1070	,,	—	,,
	28.	—	,,	—	,,
	29.	1070	,,	—	,,
	30.	1060	,,	—	,,
	31.	1070	,,	—	,,
	1. VI.	1060	,,	—	,,
	2.	1020	,,	—	,,
V. Periode	3.	1035	unpol. Reis	—	etwa 50 g Reis täglich.
	5.	1055	,,	—	,,
	7.	1170	,,	—	,,
	9.	1200	,,	—	sehr stark, munter.
	11.	1230	,,	—	,,
	14.	1230	,,	—	,,
	17.	1330	,,	—	,,
	21.	1300	,,	—	,,
	23.	1240	,,	—	,,
VI. Periode	26. VI.		pol. Reis	—	
			,,	—	
	24. VII.		,,	—	Paralyse.
	25.		unpol. Reis	—	,,
	27.		,,	—	Paralyse verschwand.
	4. VIII.	1350	pol. Reis	—	gesund.
			,,	—	
	23. IX.	1140	,,	—	Paralyse.
	26.	1065	,,	—	hochgradige Abmagerung; verblutet.

I. Periode: Der Vogel wurde weiter mit poliertem Reis gefüttert. Täglich wurde der Alkoholextrakt 2,0 ccm intramuskulär injiziert. Die Appetitlosigkeit, welche schon einige Tage vor dem Eintritt der Paralyse erschien, hielt noch an. Erst am 3. Tag der Extraktinjektion stellte sich der Appetit ein. Am 4. Tag wurde der Vogel munter und das Körpergewicht nahm ein wenig zu ($^1/_8$ des verlorenen Körpergewichtes wurde eingeholt). Die Lähmung wurde bedeutend besser, aber der Vogel konnte noch nicht gut laufen. Nach 6 Tagen war der Appetit sehr gesteigert. Nach 10 Tagen konnte der Vogel ganz gut laufen, die Paralyse verschwand gänzlich, aber das Körpergewicht blieb fast auf einem gleichen Niveau.

II. Periode: Als nun die Einspritzung des Alkoholextraktes ausgesetzt worden war, trat schon nach 2 Tagen wieder die deutliche Lähmung an den Beinen ein.[1]) Der Vogel konnte sich kaum mit ausgespreizten Beinen aufrecht halten.

Die Einspritzung des Alkoholextraktes wurde nun wieder angefangen; aber Reis wurde nicht gegeben. Ich wollte damit sehen, ob die Lähmung trotz des Aussetzens der Ernährung zur Heilung gebracht werden kann. Wie ich erwartete, wurde die Paralyse nach 3 maliger Injektion viel besser. Aber der Vogel kam stark herunter und verlor immer an Körpergewicht, weil er nichts zu fressen bekam.

III. Periode: Der Vogel kam stark herunter, konnte sich nicht aufrecht halten und lag auf einer Seite. Nun wurde dem Vogel polierter Reis gegeben. Nach 3 maligen Injektionen stellte sich der Appetit wieder ein. Nach 6 Tagen wurde der Vogel munter; die Lähmung wurde bedeutend besser. Die Menge der Injektion wurde nun ums Doppelte vermehrt, aber das Körpergewicht nahm nicht besonders zu.

IV. Periode: Die Einspritzung des Alkoholextraktes wurde ausgesetzt. Polierter Reis und dazu noch Rübenblätter wurden gegeben. Die letzteren nahm der Vogel mit großer Begierde auf; aber das Körpergewicht nahm fast gar nicht zu. In 2 Wochen der Fütterung mit poliertem Reis trat nicht wieder die Paralyse ein. Man sieht also, daß Rübenblätter auch die Paralyse zu verhindern imstande sind. Ich weise auf Prof. Suzukis Versuch hin, nach dem eine ziemlich große Menge „Perikarpin" in Rübenblättern gefunden wurde.

V. Periode: Nun wurde der Vogel mit unpoliertem Reis gefüttert und die Extrakteinspritzungen wurden ausgesetzt. Er nahm unpolierten Reis sehr begierig auf und verzehrte 50 g täglich. Das Körpergewicht nahm rasch zu, er holte in 20 Tagen 300 g ein.

VI. Periode: Schließlich wurde der Vogel nochmals mit poliertem Reis gefüttert, wobei er schon nach 2 Tagen die Lähmung an den Beinen wieder bekam. Die Paralyse wurde durch Fütterung mit unpoliertem Reis zur Heilung gebracht. Bei nochmaliger Fütterung mit poliertem Reis trat wieder Paralyse ein. Jetzt wurde der Vogel entblutet; das Blut wurde zu anderen Versuchen gebraucht. Schließlich möchte ich bemerken, daß der Kamm des Vogels während der ganzen Versuchsperioden das normale hellrote Aussehen eines gesunden Vogels zeigte.

[1]) Daß die Lähmung hier rasch eintrat, ist umsomehr interessant, als die von Kakke Genesenen zum Rezidive sehr disponiert sind. Diejenigen, welche einmal an Kakke litten, werden mehrere Jahre hindurch um dieselbe Zeit (meist im Sommer) von derselben befallen.





In diesen Versuchsreihen sieht man ganz klar, daß die Paralyse mit einer Störung der allgemeinen Ernährung wenig im Zusammenhang steht. Durch die Injektion von Alkoholextrakt von Kleie wurde die Paralyse schnell zur Heilung gebracht, während der herabgekommene Ernährungszustand des Vogels dabei kaum beeinflußt wurde (III. Periode). Auch durch das totale Aussetzen der Fütterung wurde die Paralyse durch die Injektion des Alkoholextraktes zur Heilung gebracht, während dabei die allgemeine Ernährung weiter herunterkam und der Vogel einer hochgradigen Abmagerung verfiel. Ferner haben wir schon oben gesehen, daß es solche Tauben gibt, welche bei der langdauernden Reisfütterung keine Paralyse zeigen und schließlich an Marasmus sterben. Diese Tatsachen weisen darauf hin, daß die allgemeine Atrophie keineswegs mit der Paralyse im Zusammenhang stehen oder die Vorbedingung derselben zu sein braucht.

Der geschilderte Versuch wurde bei einem zweiten Hahn mit demselben Resultat wiederholt.

I. Periode: Durch Fütterung mit poliertem Reis trat die Paralyse wie bei dem ersten auf. Diese kam dann durch die Injektion des Alkoholextraktes schnell zur Heilung, während das Körpergewicht auf demselben Niveau blieb.

Tabelle II.

Henne No. 11 (Minorca).

	Datum	Körpergewicht	Fütterung	Alkoholextr. von Kleie ccm injiziert		Bemerkungen
I. Periode	20. II. 11	1650	pol. Reis		—	
			,,		—	
	15. IV.	1270	,,		—	deutliche Paralyse.
	16.	1250	,,	täglich	1,0	kein Appetit.
	18.	1250	,,		1,0	,,
	20.	1245	,,		1,0	Appetit gut.
	22.	1255	,,		1,0	,,
	24.	1245	,,		1,0	ganz gesund.
	26.	1250	,,		1,0	,,
			,,		1,0	,,
II. Periode	1. V.	1230	,,		—	
	3.	1220	,,		—	
	9.	1255	,,		—	
	22.	1130	,,		—	
	25.	1060	,,	Rückstand	1,0	Paralyse.
	26.	1040	,,		2,0	,,
	27.	1035	,,		2,0	Paralyse besser.
	29.	1040	,,		2,0	läuft gut.
	30.	1015	,,		2,0	gesund.
	31.	1000	,,		2,0	,,
	1. VI.	1030	,,		5,0	,,
	2.	1035	,,		5,0	,,
	3.	1035	,,		—	
	12.	1140	,,		—	
	26.	1045	,,		—	
	22. VII.	—	,,		—	Paralyse.
	24.	—	,,		—	hochgradige Atrophie; verblutet.



II. Periode: Als die Paralyse nach dem Aussetzen der Injektion wieder schnell auftrat, wurde der Rückstand des Alkoholextraktes von Kleie einverleibt. Die Paralyse verschwand, weil die wirksame Substanz (Perikarpin) natürlich bei der groben Extraktion zum Teil noch zurückgeblieben war. Ich wollte damit sehen, ob durch die Injektion des Rückstandes die allgemeine Ernährung gehoben wird, im Gegensatz zum Alkoholextrakt. Das Körpergewicht blieb aber dasselbe.

Der dritte Vogel (Henne) zeigte gar keine Paralyse, wenn er auch 5 Monate lang mit poliertem Reis gefüttert wurde. Die allgemeine Ernährung war auch ziemlich gut erhalten. Zum Abschluß des Versuches hatte der Vogel bloß $^1/_5$ des Körpergewichtes verloren.

Tabelle III.

Hahn No. 12 (Minorca).

Datum	Körpergew.	Fütterung	Bemerkungen
20. II. 11.	1500	pol. Reis	
15. IV.	1350	,,	gesund und munter, während die anderen zwei Hühner erkrankten.
1. V.	1250	,,	
3.	1200	,,	
9.	1200	,,	
22.	1200	,,	
2. VI.	1225	,,	
9.	1270	,,	
14.	1240	,,	
21.	1250	,,	
26.	1220	,,	ganz gesund.
5. VIII.	1200	,,	verblutet.

Die oben geschilderten Versuche wurden dann bei Tauben wiederholt. Dabei wollte ich auch feststellen, ob die Kakke-verhindernde Substanz in absoluten Alkohol vollständig übergehen kann.

Kleie wurde im HCl-haltigen Wasser extrahiert und filtriert. Durch Neutralisation wurde das Phytin entfernt. Das Filtrat wurde abgedampft und gut getrocknet. Die so gewonnene harte Masse wurde dann im Extraktapparat nach Prof. Sudo mit absolutem Alkohol 5—6 Stunden lang extrahiert, bis der daraus fließende Alkohol farblos wurde. Auf diese Weise wurden die alkohollöslichen und unlöslichen Teile getrennt. Beide wurden in verdünntem Alkohol aufbewahrt.

10 Tauben wurden als eine Gruppe mit poliertem Reis gefüttert. Die an Paralyse erkrankten Tauben wurden herausgenommen und zum eigentlichen Versuch bestimmt. Hier sollen bloß einige Beispiele davon angeführt werden.

Die ersten Symptome der Paralyse kommen derart zum Ausdruck, daß der Vogel beim Fortlaufen nach vorne umfällt, da die Zehen nach innen sich krümmen. Wird gleich nach dieser ersten Erscheinung der Paralyse der Alkoholextrakt injiziert, so verschwindet die Paralyse schon nach einigen Stunden und der Vogel kann wieder sicher laufen (Tab. IV). Hier sieht es



so aus, als ob die Nerven einfach atonisch wurden und durch die Injektion des Alkoholextraktes wieder den Tonus gewonnen haben. Wenn die Paralyse schon in einem hohen Grade vorhanden ist und wahrscheinlich schon histo-

Tabelle IV.
No. 76 Taube. Leichter Fall der Paralyse.

Datum	Körpergewicht	Fütterung	Alkoholextr. von Kleie ccm injiziert	Bemerkungen
5. V. 11	260	pol. Reis	—	
20. V.	220	,,	2,0	Lähmung an den Beinen und dem Hals. Fällt beim Anstoßen um. 4 Stunden nach der Injektion kann der Vogel schon gut laufen.
21.	220	,,	—	
22.	220	,,	—	
24.	215	,,	—	
26.	220	,,	—	

logische Veränderungen in den Nervensubstanzen eingetreten sind, so muß die Injektion mehrere Tage oder sogar wochenlang wiederholt werden, bis die Lähmung völlig beseitigt wird (Tab. V).

Tabelle V.
No. 70 Taube. Schwerer Fall der Paralyse.

Datum	Körpergewicht	Fütterung	Alkoholextr. von Kleie ccm injiziert	Bemerkungen
6. IV. 11	180	pol. Reis	—	
29. IV.	165	,,	1,0	hochgradige Paralyse, kein Appetit.
30.	—	,,	—	
1. V.	170	,,	1,0 (jeden Tag)	Paralyse besser, Appetit besser.
2.	160	,,	1,0 (jeden Tag)	
4.	165	,,	1,0 (jeden Tag)	Paralyse fast verschwunden.
6.	170	,,	1,0 (jeden Tag)	
10.	175	,,	2,0 (jeden Tag)	
13.	180	,,	2,0 (jeden Tag)	ganz gesund.
15.	180	,,	3,0 (jeden Tag)	
20.	180	,,	3,0 (jeden Tag)	
		,,	—	
30.	160	,,	—	tot.

Bei den wiederholten Versuchen wurde festgestellt, daß der Rückstand des Alkoholextraktes für die Paralyse unwirksam war. Die wirksame Substanz kann also durch Extraktion in Alkohol von den übrigen völlig getrennt werden (ein Beispiel in der Tab. VI).

Wie die oben angeführten Versuche zeigen, wird der schon bestehende Verlust an Körpergewicht durch die Injektion des Alkoholextraktes von Kleie nicht eingeholt, während die Paralyse dadurch schnell verschwindet. Ich wollte nun sehen, wie dieses Verhalten bei der Fütterung vor sich geht.

Die Fütterung mit dem Alkoholextrakt gibt nicht so rasch Erfolg, wie die Injektion desselben. Bei einer Taube (Tab. VIII, No. 82) verschwand die Paralyse durch die Fütterung, aber das Körpergewicht nahm nicht zu,

Tabelle VI.

No. 77 Taube. Leichter Fall der Paralyse.

Datum	Körpergewicht	Fütterung	Rückstand ccm injiziert	Bemerkungen
5. V. 11	200	pol. Reis	—	
24. V.	130	,,	2,0	Paralyse an den Beinen.
25.	125	,,	2,0	Paralyse; Appetit schlecht.
26.	130	,,	2,0	,,
27.	125	,,	2,0	tot.

Tabelle VII.

No. 83 Taube. No. 84 Taube.

Datum	No. 83 Körpergewicht	Alkoholextrakt Injekt. ccm	Bemerkungen	No. 84 Körpergewicht	Alkoholextrakt Fütterg.	Bemerkungen
5. V. 11	200	—	Fütterung mit pol. Reis.	210	—	Fütterung mit weiß. Reis.
9. VI.	170	2,0	Paralyse an den Beinen.	170	Reis m. Extrakt	Paralyse an den Beinen.
10.	170	2,0	gesund.	160	,,	,,
11.	165	—	,,	160	,,	tot.
13.	155	—	,,			
14.	150	—	Paralyse. } Fütterung m. unpoliertem Reis.			
17.	175	—	gesund. }			
26.	185	—				

Tabelle VIII.

No. 81 Taube. No. 82 Taube.

Datum	No. 81 Körpergewicht	Alkoholextrakt Injekt. ccm	Bemerkungen	No. 82 Körpergewicht	Alkoholextrakt Fütterg. ccm	Bemerkungen
5. V. 11	210	—	Fütterung mit pol. Reis.	180	—	Fütterung mit weiß. Reis.
6. VI.	170	2,0	Paralyse, appetitlos.	145	} 3,0	leichte Paralyse.
7.	170	2,0	Appetit besser.	150	}	Paralyse.
8.	170	2,0	fast gesund.	150	} 6,0	Paralyse, appetitlos.
9.	160	2,0	gesund.	150	}	,,
10.	175	2,0	,,	150		tot.

und der Vogel ging schließlich an Inanition mit allgemeiner Atrophie und gleichzeitig auch mit Paralyse zugrunde. Im Gegensatz dazu war das Verhalten nach Fütterung mit unpoliertem Reis ganz anders. Hier war der Appetit sehr gesteigert, die Paralyse verschwand rasch und das Körpergewicht nahm schnell zu (Tab. VII u. VIII). Um dieses Verhalten klar festzustellen, habe ich folgende Versuche wiederholt (Tab. IX).

Kleie in HCl-haltigem Wasser extrahiert und filtriert. Auf diese Weise wurde sie in 2 Teile geteilt.

1. Das Filtrat wurde neutralisiert und gleich so eingedampft, ohne daß das Phytin entfernt zu werden brauchte. Dem dadurch gewonnenen Sirup wurde polierter Reis beigemischt und getrocknet.

2. Der Rückstand wurde wiederholt in HCl-haltigem Wasser digeriert und filtriert. Dann wurde er getrocknet und mit Reispulverkleister poliertem Reis angeklebt und getrocknet.

Während das normale Verhältnis des Schälabfalls (Kleie) zum Reis 1:10 beträgt, wurde in beiden Versuchen der Rückstand im Verhältnis 2:10 auf den polierten Reis gebracht.

Die Tauben, welche mit Reis + Extrakt von Kleie gefüttert wurden, zeigten zwar keine Paralyse, doch kam der allgemeine Ernährungszustand

Tabelle IX.
Fütterungsversuch bei Tauben.

Datum	No. 86	No. 87	No. 88	No. 89	No. 90
	Alkoholextrakt von Kleie + polierter Reis		Rückstand + polierter Reis		
	(Körpergewicht)		(Körpergewicht)		
26. VI. 11	280	270	180	220	280
28.	250	250	175	200	255
1. VII.	230	225	185	185	220
3.	240	230	180	170	220
5.	260	225	175	160	205 } Paralyse
6.	250	215	175	155	200 } Paralyse
8.	240	210	170	150	185 } Paralyse
10.	215	205	160	140	170 } Paralyse
12.	235	225	170	145	+
14.	240	230	170	145	
15.	245	225	165	135 + keine Paral.	
17.	245	210	160		
19.	250	215	155		
22.	260	225	160		
24.	255	230	155		
26.	245 + keine Paral.	220	155		
28.		210	150		
30.		230	145		
3. VIII.		210 } mit unpol. Reis	145 } mit unpol. Reis		
5.		210 } mit unpol. Reis	145 } mit unpol. Reis		
9.		230 } mit unpol. Reis	150 } mit unpol. Reis		
12.		240 } mit unpol. Reis	160 } mit unpol. Reis		
18.		230 } mit unpol. Reis	160 } mit unpol. Reis		+ = Tod



herab. Das Körpergewicht nahm erst ab und kam dann in ein Ernährungsgleichgewicht bei bleibender Verminderung des Körpergewichtes. Bei der Fütterung mit Reis + Rückstand litten die Tauben an der allgemeinen Ernährungsstörung und zwei unter drei starben an Marasmus. Bei einer der gestorbenen trat die Paralyse auf. Zu bemerken ist, daß die Tauben, welche schon an einer hochgradigen, allgemeinen Ernährungsstörung gelitten hatten, durch die Fütterung mit unpoliertem Reis das verlorene Körpergewicht schnell einholten (Tab. IX).

Auch bei diesen Versuchen haben wir beweisen können, daß die Paralyse mit dem allgemeinen Ernährungszustand keineswegs in direktem Zusammenhang steht. Ich habe unter den zahlreichen Versuchsreihen oft auch solche Fälle bei Tauben und Hühnern gehabt, bei denen die Muskulatur ganz gut erhalten blieb, die Ernährung kaum gestört war und trotzdem die Paralyse eintrat. Ferner ist hervorzuheben, daß die Nahrungsstoffe durch die Denatura- [illegible] einem gewissen Sinne ihren Nährwert einbüßen können (Tab. IX). Wenn man nun daran denkt, daß der Stoffwechsel beim Menschen viel komplizierter als bei Vögeln sein wird, so ist es mir nicht sicher, ob alle Ergebnisse bei Tierversuchen ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden können.

Den weiteren Untersuchungen über die experimentelle Kakke in bezug auf die Ernährung, wie unsere Versuche ergeben hatten, sah ich mit wachsendem Interesse entgegen. Doch liegen solche Studien meinem Fache fern und müssen den Händen der Physiologen oder Chemiker überlassen werden (siehe unten).

Tabelle X.

15proz. Lecithin-Lösung.

Versuchstag	No. 100 Taube. Körpergewicht	Injektion ccm	Symptome	No. 101 Taube. Körpergewicht	Injektion ccm	Symptome
1	140	2,0	Paralyse an den Beinen.	205	2,0	leichte Paralyse.
2	135	1,0	Paralyse nimmt zu.	200	1,0	Paralyse nimmt zu.
3	140	1,0	kann nicht laufen.	230	1,0	,,
4	125	1,0	herabgekommen.	210	1,0	Laufen unmöglich.
5	120	—	tot.	185	1,0	,,
6				185	—	tot.

Tabelle XI.

Nukleinsaures Natrium.

Versuchstag	Körpergewicht	Injektion g	Symptome
1	180	0,1	Paralyse an den Beinen.
2	170	0,1	,,
3	200	0,1	Paralyse, nahm zu.
4	175	0,1	,,
5	165	0,1	tot.



Hier möchte ich noch ganz kurz hinzufügen, daß Nukleinsäure und Lecithin gegen die Paralyse keinen Erfolg hatten (Tab. X, XI).

Ich habe ferner vergleichende Versuche über die Wirksamkeit des Extraktes von einigen Getreidearten angestellt (Tab. XII, XIII).

Tabelle XII.

Alkoholextrakt von grünen Bohnen.

No. 104 Taube. No. 105 Taube.

Versuchs-tag	Körper-gewicht	Injek-tion ccm	Symptome	Körper-gewicht	Injek-tion ccm	Symptome
1	210	2,0	Paralyse an den Beinen.	175	2,0	Lähmung an den Beinen. und dem Kopf.
2	190	2,0	Paralyse besser.	165	2,0	Lähmung verschwunden.
3	180	2,0	ganz gesund	160	—	gesund.
4	175	—		170	—	
5	180	—	tot.	155	—	
6				155	—	Paralyse.
7				145		tot.

Tabelle XIII.

Alkoholextrakt von roten Bohnen (Phaseolus radiatus).

No. 106 Taube. No. 76 Taube.

Versuchs-tag	Körper-gewicht	Injek-tion ccm	Symptome	Körper-gewicht	Injek-tion ccm	Symptome
1	170	1,0	Paralyse.	195	1,0	Paralyse.
2	155	1,0	Paralyse u. Diarrhöe.	155	1,0	Paralyse verschwunden.
3	150	1,0	Diarrhöe.	165	—	gesund.
4	135	1,0	tot.	160	—	,,
5				150	—	wieder Paralyse.

Der Alkoholextrakt von grünen (mandschurischen) Bohnen war auch wirksam gegen die Paralyse wie Kleieextrakt. Der Extrakt von roten Bohnen (Phaseolus radiatus) ebenfalls wirksam, aber anscheinend weniger wirksam als der erstere. Sehr interessant ist es, daß der Alkoholextrakt von roten Bohnen nach subkutaner Injektion bei Vögeln Diarrhöe hervorruft, ebenso die Fütterung mit diesen Bohnen (vgl. meine I. Mitteilung).

3. Fütterung mit poliertem Reis und Gerste.

In der ersten Mitteilung habe ich gezeigt, daß die Tauben bei Fütterung mit Gerste gesund blieben, ohne die Paralyse gezeigt zu haben. Wie schon aufmerksam gemacht wurde, mag es kaum möglich sein, die Ergebnisse der Tierversuche ohne weiteres auf den Menschen zu übertragen. Dennoch scheint es mir nicht ganz wertlos zu prüfen, wieviel Gerste mit poliertem Reis die Tauben, welche überhaupt zur Paralyse hochgradig disponiert sind, sowohl vor dieser Erkrankung zu schützen wie auch in einem Gleichgewichtszustand der Ernährung zu erhalten vermag.

Eine Anzahl Tauben wurden in 7 Gruppen geteilt und mit Gerste und poliertem Reis in verschiedenen Mengenverhältnissen gefüttert. Da die Tauben Gerste viel lieber als polierten Reis fraßen, so habe ich die gegebene Menge gerade so bemessen, daß sie in einem Tag aufgefressen wurde (Tab. XIV).

Tabelle XIV.

Gruppe	Taube No.	Futter	Körpergewicht v. d. Versuch	Körpergewicht n. d. Versuch	Fütterungsdauer (Tage)	Paralyse
I	1	Gerste	240	200	60	—
	2		220	240	60	—
	3		190	135	15 tot	—
II	4	Gerste 7 T. pol. R. 3 T.	220	180	60	—
	5		285	185	42 tot	—
	6		235	155	21 tot	—
III	7	Gerste 5 T. pol. R. 5 T.	280	200	60	—
	8		240	185	54 tot	—
	9		245	155	20 tot	—
IV	10	Gerste 4 T. pol. R. 6 T.	230	190	47 tot	+
	11		230	210	60	—
	12		230	150	36 tot	+
V	13	Gerste 3 T pol. R. 7 T.	300	180	28 tot	+
	14		280	215	15 tot	+
	15		250	155	19 tot	+
	16		350	225	20 tot	+
	17		270	205	18 tot	+
VI	18	Gerste 2 T. pol. R. 8 T.	280	170	32 tot	+
	19		210	145	30 tot	+
	20		255	175	32 tot	+
	21		300	180	32 tot	+
VII	22	polierter Reis	280	170	15 tot	+
	23		245	210	12 tot	+
	24		240	165	12 tot	+
	25		270	230	12 tot	+

Die Versuche wurden nach 60 Tagen abgeschlossen.

Wenn Reis und Gerste in gleicher Menge gegeben wurden, so zeigten die Tauben keine Paralyse. Bei Fütterung mit 4 Teilen Gerste und 6 Teilen poliertem Reis erkrankten die Tauben öfters und bei der Fütterung mit weniger als $^1/_3$ Teil Gerste zu poliertem Reis fast konstant an Paralyse. Je geringer der Zusatz von Gerste zu poliertem Reis war, desto rascher trat Paralyse auf.

4. Welches ist die Kakke-verhindernde Substanz in Reiskleie?

Um über die Kakke-verhindernde Substanz nähere Kenntnis zu geben, weise ich auf Prof. U. Suzukis Arbeit hin. Dieser hervorragende Chemiker in der agrikulturen Fakultät der Tokio-Universität hat seit mehreren Jahren



die experimentelle Kakke bei Tieren studiert. Nachdem er auch bestätigt hatte, daß diese Krankheit durch das Fehlen einer gewissen Substanz in der Nahrung hervorgerufen wird, stellte er Versuche an, diese Substanz von der chemischen Seite zu studieren. Im Laufe von zwei Jahren hat er 7 Mitteilungen in der japanischen Zeitschrift „die chemische Gesellschaft" ausgeben lassen. Seine Versuche sind beinahe zum Schluß gelangt und es wird erwartet, daß sie in der nächsten Zeit auf Deutsch publiziert werden.[1])

Zusammenfassung.

1. Die Kakke-Krankheit tritt bei einem gewissen Zustand der Ernährungsdisharmonie auf, welche durch den Mangel einer gewissen Substanz in der Nahrung herbeigeführt wird. Deshalb können alle Momente, welche Ernährungsstörung und partiellen Ernährungsmangel begünstigen, die indirekte Ursache der Kakke sein.

2. Individuelle Disposition spielt sicher eine große Rolle bei der Kakke.

3. Die Kakke-verhindernde Substanz in der Kleie ist in warmem Alkohol löslich. Im Extraktionsapparate kann man diese Substanz von den übrigen Bestandteilen der Kleie, die auf das Entstehen der Kakke ohne Einfluß sind, trennen.

4. Bei den Injektionsversuchen von Kleie-Alkoholextrakt bei Hühnern habe ich festgestellt, daß die Paralyse mit dem allgemeinen Ernährungszustand keineswegs in direktem Zusammenhang steht. Damit ist der Einwand widerlegt, daß die Paralyse bei Tieren mit der Menschenkakke deshalb nicht ganz identisch sei, weil eine allgemeine Atrophie bei Versuchstieren stets der Paralyse vorangeht, während sie bei der Menschenkakke sehr gut fehlen kann.

5. Die Tauben, welche für die Paralyse hochgradig disponiert sind, werden von dieser Erkrankung nicht befallen, wenn polierter Reis und Gerste in gleicher Menge zur Fütterung gegeben werden. Wenn mehr Reis als Gerste gegeben wird, so wird die Paralyse in den meisten Fällen auftreten.

---

[1]) Bei der Korrektur bemerke ich, daß Prof. Suzuki's Arbeit „Ueber Orizanin, ein Bestandteil der Reiskleie und seine physiologische Bedeutung" in der Biochemischeu Zeitschrift, Bd. 43 Heft 1—2, 1912, erschienen ist.



VI. E. Seligmann (Berlin):

Bakteriologische Beobachtungen bei Säuglingsgrippe (II).

Im vorigen Jahre habe ich vor diesem Forum Befunde mitgeteilt, die ich bei einer Grippeepidemie auf der Krankenabteilung des Berliner städtischen Waisenhauses in Rummelsburg erhoben hatte. Es handelte sich damals um eine klinisch recht schwere Epidemie, die mit Eiterungen in Brust- und Bauchhöhle einherging. Wir fanden 8 mal, zum größten Teil im Sektionsmaterial, eigenartige Streptokokken, die ich für den Erreger dieser Epidemie gehalten und daher mit dem Namen „Grippestreptokokkus" belegt hatte.

In diesem Winter bot sich vermehrte Gelegenheit, der Frage nach der Aetiologie der Säuglingsgrippe wieder nachzugehen. Sowohl Professor Erich Müller in Rummelsburg wie Professor Finkelstein in Berlin stellten mir ihr großes Material, in freundlichster Weise zur Verfügung. Mir lag besonders daran, bakteriologische Befunde am Lebenden zu erhalten, einmal wegen der besseren Verwertbarkeit solcher Erhebungen, dann aber auch aus praktischen, diagnostischen wie prophylaktischen Gründen. Ich habe deshalb bei einer ganzen Anzahl von Kindern Blut- und Rachensekretuntersuchungen vorgenommen. Das Blut wurde von den behandelnden Aerzten direkt aus der Vene entnommen und, (zu 1—2 ccm) in Traubenzuckerbouillon aufgefangen; Blutbouillon und Rachenabstrich (Diphtherietupfer) wurden mir sofort nach der Entnahme überbracht. Die Blutbouillon wurde sofort und nach 24 stündiger Anreicherung bei 37° auf Kaninchenblutagarplatte und auf Glyzerinagar verimpft, ein kleiner Teil (etwa 1 ccm) einer weißen Maus subkutan injiziert. Der Tupfer mit dem Rachensekret wurde auf den gleichen Nährböden ausgestrichen.

Das Resultat der Rachenuntersuchungen, das nicht sehr ergiebig war, sei vorweg genommen; wir konnten nur in 4 Fällen Bakterien isolieren, die als Krankheitserreger in Betracht kommen, 2 mal den *Streptococcus viridans* bei leichten Grippefällen — ein Zusammenhang zwischen ihm und der Erkrankung ist wohl problematisch — und 2 mal Pneumokokken. Der eine Fall zeigt auch sonst die Erscheinungen einer schweren Pneumokokkeninfektion (Empyem mit Pneumokokkenbefund); der andere stellte eine leichtere Grippeerkrankung dar, bei der wahrscheinlich ebenfalls der Pneumokokkus als Erreger zu gelten hat.

Reichhaltiger waren dagegen die Resultate, die wir bei der Untersuchung des Blutes gewannen. Wir hatten mit den Aerzten besprochen, wenn möglich schon beim ersten Fieberanstieg die Blutentnahme vorzunehmen, — auch bei anderen Infektionskrankheiten (Typhus, Pneumonie) ist die Blutkultur ja



gerade in den Frühstadien am erfolgreichsten —, so daß außerdem auch eine etwa willkürliche Auswahl besonders schwerer Fälle vermieden wurde. Die Schwere des Krankheitsbildes konnte vielmehr meist erst später, gewöhnlich nach Beendigung der bakteriologischen Untersuchung, beurteilt werden. Wir bezeichnen im folgenden als „leichte Grippe" diejenigen Erkrankungen, die durch ein nur kurzdauerndes Fieber mit geringen Allgemeinerscheinungen charakterisiert waren; als „schwere Grippe" die Fälle langdauernden, septisch scheinenden Fiebers, ausgesprochene pneumonische und meningitische Erscheinungen, sowie außerdem alle Fälle mit lokalen Komplikationen (Empyem usw.), die mit der Hauptkrankheit in Beziehung standen.

Das Blut leichtkranker Kinder haben wir 24 mal untersucht, nur in einem Fall konnten wir Bakterien nachweisen und zwar beim ersten, nur einen Tag währenden Fieberanstieg. Gefunden wurde der oben erwähnte Grippestreptokokkus. Also positive Ausbeute bei leichtkranken Kindern: 4,2 Proz.

Das Blut schwer grippekranker Kinder wurde 14 mal untersucht, positiver Befund wurde fünfmal erhoben, prozentual ausgedrückt also in 35,7 Proz. Der Vergleich dieser Zahlen beweist, daß der Nachweis von Krankheitserregern im Blut bei Säuglingsgrippe im allgemeinen eine ungünstige Prognose gibt. In der Tat starben von den 6 Kindern mit positivem Blutbefund 4. Ueber die Einzelheiten der Befunde später. Material von Komplikationen wurde 9 mal untersucht, 8 mal mit positivem Erfolg. 7 mal handelte es sich um Empyemeiter (stets positiv), zweimal um Fontanellenpunktat bei Pachymeningitis haemorrhagica interna (1 mal positiv).

Außer diesem von Lebenden stammenden Material bekamen wir in 10 Fällen Sektionsmaterial zur Untersuchung, das jedesmal den Nachweis von Krankheitserregern gestattete.

Das Krankheitsbild der Säuglingsgrippe, das ja klinisch von außerordentlicher Mannigfaltigkeit ist, stellt nun auch ätiologisch keine Einheit dar. An bekannten Krankheitserregern fanden wir: Pneumokokken, *Streptococcus pyogenes*, Grippestreptokokken und *Staphylococcus aureus*; an bisher nicht bekannten zwei Bakterienarten, die morphologisch eine Zwischenstellung zwischen Streptokokken und Pneumokokken einnehmen, von beiden Formen aber deutliche Verschiedenheiten aufweisen.

Pneumokokken wurden beim Lebenden, außer im Rachen, gefunden; 1 mal im Blut eines Kindes, das später an einer Pleuropneumonie zugrunde ging, 2 mal im Empyemeiter (beide Kinder starben kurz darauf). Aus der Leiche züchteten wir Pneumokokken 3 mal: der erste Fall betraf ein Kind, das an Cerebrospinalmeningitis im Anschluß an eine Grippe gestorben war; hier fanden wir die Erreger im Blut und in der Lumbalflüssigkeit. Im zweiten Fall handelt es sich um ein Kind, das nach längerer Grippeerkrankung einer schweren Pleuropneumonie erlag. Aus dem Herzblut züchteten wir neben den Pneumokokken noch den *Staphylococcus aureus*.

Grippestreptokokken fanden wir in dem einen, schon erwähnten Fall leichter Grippe im Blute; ferner in einem Empyemeiter und schließlich in einem Fontanellenpunktat. Die Pachymeningitis haemorrhagica interna war im letzten Jahre relativ häufig im Berliner Kinderasyl aufgetreten, und zwar in einer Weise, die den Verdacht auf einen Zusammenhang mit der Grippe nahelegte. Schon im Sommer hatte mir Herr Prof. Finkelstein deshalb öfters von dem blutigen Fontanelleninhalt zur Untersuchung ge-



schickt; ich hatte es aber stets als steril befunden. Jetzt kamen im Winter neue Fälle im Anschluß an Grippe vor, und eines der Fontanellenpunktate enthielt dann schließlich auch eine Reinkultur von Grippestreptokokken. Wahrscheinlich handelte es sich jedoch hier um eine Sekundärinfektion, zumal die Fontanellenflüssigkeit, die sonst reines Blut enthält, in diesem Falle stark hämolysiert war und reichliche Mengen Leukocyten barg.

Streptococcus pyogenes wurde zweimal aus dem Lungensaft von Kinder gezüchtet, die an abszedierender Pneumonie zugrunde gegangen waren, beide Male waren gleichzeitig auch große Mengen von *Staphylococcus aureus* vorhanden.

Der relativ häufige Nachweis von *Staphylococcus aureus* im Blut und den Exsudatflüssigkeiten Kranker sowie in den Organen der Gestorbenen gab uns anfänglich viel zu denken. Wir konnten uns nicht recht dazu entschließen, in diesem weitverbreiteten Eitererreger einen ätiologischen Faktor bei Säuglingsgrippe anzunehmen. Andererseits waren die Befunde so häufig, das später sich entwickelnde Krankheitsbild so charakteristisch, daß ein ätiologischer Zusammenhang unabweisbar wurde.

Wir fanden den Staphylokokkus im Blute des Lebenden in Reinkultur 4 mal, im Empyemeiter weitere 4 Male, ebenfalls in Reinkultur, im ganzen bei 7 Kindern. Von diesen 7 Patienten starben 6 sehr rasch an den Folgen einer abszedierenden Pneumonie mit Empyembildung; nur 1 Kind kam mit dem Leben davon, nachdem es eine sehr schwere Grippe mit häufigen Krampfanfällen durchgemacht hatte. Leichenorgane haben wir in den geschilderten Fällen nicht zur Untersuchung erhalten, nur 1 mal steril entnommenes Herzblut, in dem wir, wie im Leben, *Staphylococcus aureus* nachweisen konnten. Gerade in der Untersuchung der Organe mußte aber die Aufklärung zu finden sein. Ich bat deshalb um regelmäßige Ueberlassung von Sektionsmaterial in entsprechenden Fällen und erhielt daraufhin noch 3 mal Leichenblut und 6 mal Lungenteile zur weiteren Verarbeitung. — Aus diesen Zahlen können Sie allein schon entnehmen, wie schwer das Krankheitsbild gewesen sein muß. —

Im Leichenblut fand ich nun 1 mal Pneumokokken im Verein mit *Staphylococcus aureus*; der Gedanke einer Mischinfektion auf Basis der schon vorhandenen Pneumokokkeninfektion lag hier nahe. Aehnliche Beobachtungen sind ja schon 1890 von H. Neumann an Kinder*pneumonien* gemacht worden. In dem zweiten Blute fand ich neben *Staphylococcus aureus* eine Bakterienart, die man vielleicht als eine atypische Varietät des Pneumokokkus ansehen kann, obwohl sie in vieler Hinsicht den Streptokokken näher steht als den Pneumokokken. Ihre genauere Beschreibung soll später erfolgen.

Ich habe dann eine Reihe von Lungen in Schnitten und mit dem üblichen Kulturverfahren untersucht. Alle die Kinder, von denen diese Lungen stammten, zeigten klinisch das gleiche Krankheitsbild: plötzliches hohes Fieber mit schweren Allgemeinerscheinungen, rapider Verlauf in 1—3 Tagen; meist Empyembildung am letzten Tage. Mitunter verliefen die Erscheinungen so stürmisch, daß es nicht mehr zur Empyembildung kam. Anatomisch zeigten die Lungen das Bild einer lobulären Pneumonie mit multiplen Infarkten und Abszessen. Mikroskopisch: zahlreiche Abszesse und Infarkte in einzelnen Teilen der pneumonischen Lunge, andere Teile frei von Abszedierungen. Besonders das subpleurale Gewebe zeigte reichliche Abszeßbildung (Demonstration). Bei starker Vergrößerung charakterisieren sich die



Abszesse als mächtige Haufen von Staphylokokken (Demonstration); in einem Falle liegt das charakteristische Bild einer Mischinfektion von Staphylokokken und Streptokokken vor (Demonstration). (Färbung nach Kühne-Weigert.) Zwischen den großen Staphylokokkenansiedlungen sieht man nun in einigen Fällen eine weitere Bakterienart, es liegen, scheinbar diffus im Gewebe verteilt, kleine lanzettförmige Doppelkokken, die den Pneumokokken sehr ähnlich sind, an manchen Stellen aber fast wie kleine Stäbchen erscheinen. Diese Bakterien finden sich auch in Teilen der Lunge, wo die Staphylokokken fehlen; doch sind auch sie auf bestimmte Lobuli beschränkt (Demonstration). Ihre Züchtung macht erhebliche Schwierigkeiten, einmal, weil sie offenbar auch nur in bestimmten Teilen der Lunge sitzen, die man makroskopisch nicht erkennen kann, sodann aber weil die Begleitbakterien eine viel stärkere Vitalität besitzen und auf den Nährböden die nur kümmerlich wachsenden Mikroorganismen sehr schnell überwuchern; selbst im Tierversuch an weißen Mäusen scheinen diese Erreger bei Anwesenheit der Staphylokokken schnell zugrunde zu gehen. Obwohl ich die Bakterien in Schnitten von 4 Lungen gefunden habe, konnte ich sie bisher nur 1 mal aus einer Lunge reinzüchten, ein anderes Mal isolierte ich sie in Reinkultur aus dem Herzblut eines der an abszedierender Pneumonie gestorbenen Kinder.

Das kulturelle Verhalten dieser Bakterien, die ich Grippediplokokken nennen möchte, ist folgendes: auf gewöhnlichem Agar wachsen sie sehr kümmerlich und so fein, daß sie nur mit der Lupe zu erkennen sind; auf Glyzerin- und Traubenzuckeragar wachsen sie gar nicht; ihr Wachstum in Gelatine ist minimal; besser gedeihen sie in flüssigen Nährböden, in Bouillon und Traubenzuckerbouillon wachsen sie spärlich mit ganz schwacher diffuser Trübung; gut gedeihen sie auf eiweißhaltigen Nährböden, auf Kaninchenblutagar in graugrünlichen, opaken Kolonien ohne Hämolyse, auf Löfflerserum bilden sie feine Kolonien; einigermaßen üppiges Wachstum zeigen sie im Kondenswasser der Serumröhrchen. Morphologisch charakterisieren sie sich in diesem Kondenswasser als Kokken, die entweder zu zweien liegen und dann nicht selten Lanzettform annehmen, oder die kurze Ketten bilden, dann sind die Kokken gewöhnlich kreisrund. Sie sind grampositiv. Für weiße Mäuse sind sie — in Reinkultur — hochpathogen; die Tiere gehen nach subkutaner Infektion in 24—48 Stunden septisch zugrunde und zeigen in ihrem Blut folgendes Bild: (Demonstration) massenhaft, schön gekapselte Kokken, manche wie Pneumokokken gelagert, die Mehrzahl aber besteht aus Einzelkokken, die in einer großen Kapsel exzentrisch angeordnet sind; wieder andere Kapseln umschließen kurze Ketten und manche Kapseln erscheinen ganz leer. Namentlich die exzentrische Anordnung ist charakteristisch. Dies Bild ist von dem eines Pneumokokkenblutes recht verschieden, ebenso wie auch das kulturelle Verhalten der Erreger von dem des Pneumokokkus erheblich abweicht. Wir haben es hier wahrscheinlich mit einer neuen, bisher nicht gekannten Bakterienart, den Grippediplokokken, zu tun. Ob sie die primären Erreger dieser Grippepneumonien sind, läßt sich vor der Hand noch nicht entscheiden; dafür spricht in gewissem Sinne das histologische Bild, das zeigt, wie die Abszeßbildung der Staphylo- und Streptokokken an vielen Stellen den Blutgefäßen folgt und sich rings um die strotzend gefüllten Gefäße etabliert. Dieser Umstand läßt an die Möglichkeit denken, daß die mehr diffus verteilten Grippediplokokken die ursprüngliche Lungenaffektion verur-

[1]) Jahrbuch für Kinderheilkunde 1890 Bd. 30.

sachen, während die Eitererreger erst nachträglich auf dem Blutwege plötzlich disseminiert werden und nun zu dem tödlichen Ausgange führen. Dagegen spricht, daß wir in mehreren Fällen Staphylokokken schon im Blut nachweisen konnten, ehe noch irgendwelche Lungenerscheinungen vorhanden waren. Fast alle diese Kinder sind dann später an abszedierender Pneumonie zugrunde gegangen. Endgültig läßt sich die Frage nach der primären Krankheitsursache jedenfalls noch nicht lösen, dazu sind weitere Untersuchungen erforderlich.

Die mitgeteilten Beobachtungen beweisen aber wiederum, daß die Aetiologie der Säuglingsgrippe keine einheitliche ist, daß eine ganze Reihe von Bakterien als Erreger in Betracht kommen, genau wie man auch klinisch nicht von einem einheitlichen Symptomenbilde sprechen kann.

Diskussion:

Petruschky (Danzig): Petruschky fragt den Vortragenden, ob auf das etwaige Vorkommen des Influenza-Bazillus geachtet worden ist, der ja oft in Kombination mit Streptokokken, Pneumokokken oder Staphylokokken als Grippeerreger beobachtet wird und ferner, wodurch der Herr Vortragende seinen „Grippestreptokokkus“ von anderen Streptokokken-Stämmen differenziert.

Seligmann (Berlin): Auf das Vorkommen von Influenzabazillen ist stets geachtet worden, durch Kultur, Schnitt und Ausstrichpräparat; in keinem Säuglingsgrippefall der letzten Jahre konnten sie aber aufgefunden werden.

Die Sonderstellung des Grippestreptokokkus habe ich bereits im vorigen Jahr begründet. Diese Streptokokkenart unterscheidet sich von den anderen Streptokokken durch gewisse Wachstumseigentümlichkeiten auf der Blutplatte und in Bouillon. Sie wachsen auf der Kaninchenblutagarplatte in großen, planen, bräunlichen, schnell trocknenden Kolonien mit einer Andeutung von Hämolyse, die sich auch durch Tierpassage nicht steigern läßt. In Bouillon nehmen sie eine Mittelstellung zwischen den pathogenen und den saprophytischen ein. Während diese die Bouillon diffus trüben, jene sie unter Bildung eines Niederschlages klar lassen, lassen die Grippestreptokokken die Bouillon durch feinste Körnelung als getrübt erscheinen, ohne daß es zu einem Absitzen kommt. Ich möchte damit aber nicht etwa die Frage nach der Abgrenzung der Streptokokken überhaupt aufrollen; ich fürchte, dann würden wir zu keinem Ende der Diskussion kommen.

VII. Dold und Ogata (Straßburg):

Weitere Studien über Organextraktgifte.

Meine Herren! Wie Sie wissen, kann man aus allen bisher untersuchten Organen (Lunge, Muskel, Leber, Niere, Gehirn, Hoden) durch einfache Extraktion mit physiologischer Kochsalzlösung Stoffe gewinnen, welche bei i. v. Injektion die Versuchstiere (Kaninchen, Meerschweinchen), und zwar sowohl die homologen wie die heterologen, akut töten (Bianchi, Dold, Roger).

Es handelt sich hier also um ein allgemeines Prinzip und nicht um Gifte, welche — wie man das früher vielfach annahm — nur den bestimmten jeweils extrahierten Organen eigentümlich wären.

Diese Extraktgifte sind thermolabil, sie verlieren ihre Wirkung durch Filtration durch Berkefeld-Filter und — was biologisch sehr wichtig ist — durch Zusammenmischen mit frischem Serum, Plasma, Blut.

Neuerdings berichteten Askoli und Isar, daß man durch ca. 12stündige



Digestion von untertödlichen Organextraktdosen mit frischem Serum wieder tödliche Gifte erhalten könne. Wir haben diese Versuche an Kaninchen nachgeprüft, haben aber bis jetzt (4 Versuche) nichts Derartiges beobachtet. Wir möchten annehmen, daß es sich bei den Versuchen von Askoli und Isar nicht um Gifte von der Natur der Organextraktgifte, sondern um irgendwelche andere giftige Stoffe (bakteriologische Zersetzungen des Serums, anaphylatoxinartige Stoffe) handelt.

Wie ich schon früher zeigen konnte, ist es nicht notwendig, zur Gewinnung dieser Organextraktgifte die Zellen zu zertrümmern; es genügt vielmehr, daß man durch Anschneiden des sonst intakten Organs dem Organgewebssaft Gelegenheit gibt, in die umgebende physiologische Kochsalzlösung auszutreten; die Kochsalzlösung erweist sich nach ca. 2 Stunden giftig.

Andererseits gelingt es nicht, aus großen Mengen zertrümmerter freier Zellen z. B. Leukocyten oder Erythrocyten oder Knochenmark Gifte von derselben Wirkung zu extrahieren.

Daraus schloß ich, daß das giftige Agens der Organextrakte weniger aus dem Zellinnern als aus dem die Zellen umspülenden Gewebssaft, der Gewebslymphe, stamme.

Ich habe nun diese Untersuchungen in Gemeinschaft mit Herrn Ogata fortgesetzt. Es kam uns hauptsächlich darauf an festzustellen, wie sich Organgewebe, welche bezüglich ihres Zell- und Lymphgehalts sehr differieren, bezüglich des Gehalts an Extraktgiften verhalten.

Zu solchen Versuchen eignet sich wohl am besten das Auge mit seinen einzelnen Teilen (Retina plus Uvea, Sklera, Cornea, Linse, Glaskörper). Wir extrahierten daher die verschiedenen Teile des Auges (homologe und heterologer) Tiere, Retina plus Uvea, Sklera, Cornea, Linse, Glaskörper getrennt, und zwar teils die frischen Gewebe, teils (um streng quantitativ arbeiten zu können) die Trockensubstanzen der verschiedenen Teile des Auges.

Wir fanden, daß am meisten extrahierbare Gifte die Retina und Uvea enthalten, dann kommen Sklera und Cornea, von denen man schon viel größere Mengen extrahieren muß, um tödliche Giftdosen zu erhalten und schließlich Linse und Glaskörper, aus denen wir überhaupt keine Gifte extrahieren konnten, obwohl wir ca. 7mal soviel Gewebsmasse extrahierten, wie bei Retina und Uvea.

Es geht also daraus hervor, daß ein Organ um so mehr extrahierbare Gifte liefert, je zell- und lymphreicher es ist.

Da man nun aus großen Mengen freier Zellen (Leuko-, Erythrocyten) kein Gifte von derselben Wirksamkeit erhält und da man — um die Organextraktgifte zu erhalten — die Organzellen nicht zu zertrümmern braucht, so scheint aus alledem hervorzugehen, daß das giftige Agens der wässerigen Organextrakte aus dem Gewebssaft, der Gewebslymphe stammt.

Da man nun wohl annehmen darf, daß auch in vivo die Bildung und Ausscheidung dieser Gifte teils in der Art einer inneren Sekretion, teils in Form der periodisch in die großen Venen sich ergießenden Lymphe erfolgt, so ist mit dem von mir früher erbrachten Nachweis der entgiftenden Wirkung des frischen Serums (Blutes) zugleich auch gezeigt, wie der Organismus diese Gifte für sich unschädlich macht. Damit wäre also ein gewisser Gleichgewichtszustand zwischen Giftzufuhr und Entgiftung konstatiert, welcher sowohl durch eine vermehrte Bildung und Ausscheidung der genannten Gifte, wie durch eine Abnahme der entgiftenden Fähigkeit des



Blutes gestört werden kann, und dann zu einer Art inneren Vergiftung führen muß.

Diese hypothetische Betrachtung verdient vielleicht einiges klinisches Interesse.

Was nun die Pathologie der Organextraktvergiftung anlangt, so fällt in erster Linie das Blutbild der an Organextraktvergiftung akut eingegangenen Tiere auf. Während nämlich die Hauptmasse des Blutes, besonders das periphere Blut, ungeronnen ist und eine beträchtliche Verminderung seiner Gerinnbarkeit zeigt, finden sich regelmäßig Gerinnsel in der Portalvene und ihren Wurzelästen, im rechten Herzen und in den Lungenarterien. Durch genaue makroskopische und mikroskopische Untersuchungen konnten wir feststellen, daß die Thrombenbildung in den Lungenarterien intravital erfolgt, während die Gerinnsel in der Pfortader usw. im Herzen in der Regel postmortal sich bilden.

Die eigentliche Todesursache bei der Organextraktvergiftung beruht demnach auf einer intravitalen Blutgerinnung; meist handelt es sich um eine Thrombosierung der Lungenarterien.

Durch Zusatz von Hirudin zu den wässerigen Organextrakten wird deren giftige gerinnungserregende Wirkung nicht aufgehoben. Es erscheint deswegen nicht berechtigt, das wirksame Agens in den Organextrakten mit dem Thrombozym, dessen Wirkung bekanntlich durch Hirudin aufgehoben wird, zu identifizieren, wie dies Blaizot getan hat.*)

Verschiedene Autoren Aronson, Bauer, Dörr haben in letzter Zeit die Organextraktgifte mit dem Anaphylatoxin bzw. dem anaphylaktischen Gift in Parallele gestellt einige sogar identifiziert (Bauer). Wir halten dies nicht für berechtigt. Stellt man die beiden Gifte einander gegenüber, so entdeckt man mehr gegensätzliche als gemeinsame Punkte.

Schon die verschiedene Art der Entstehung:

1. Die Organextrakte lassen sich rasch durch einfache wässerige Extraktion aus den Organgeweben gewinnen; das Anaphylatoxin entsteht durch Wechselwirkung zwischen frischem Serum und fremden Eiweiß.

2. Für die Organextraktgifte sind Kaninchen sehr empfindlich (relativ empfindlicher als die Meerschweinchen). Für das Anaphylatoxin gilt eher das Umgekehrte.

3. Die Giftwirkung der Organextrakte beruht auf einer Thrombosierung der Gefäße, besonders der Lungenarterien. Von Lungenblähung und -Starre ist nichts zu bemerken. Die Giftwirkung des Anaphylatoxins scheint dagegen auf einer direkten Wirkung, auf das Atemzentrum zu beruhen, wir haben Krampf der Bronchialmuskeln, Lungenblähung und -Starre keine Thrombosierungen, im Gegenteil herabgesetzte Gerinnbarkeit des Blutes.

4. Der Umstand, daß man nach Injektion untertödlicher Organextraktdosen einen der Antianaphylaxie analogen Zustand von Unempfindlichkeit beobachtet, scheint mir nichts zu beweisen, da derartige Reaktionszustände bei den heterogensten Giften beobachtet wurden.

5. Es bleibt also eigentlich nur der akute Tod unter Krämpfen, der beiden gemeinsam ist. Aber 1. sind die Krämpfe verschieden und 2. selbst wenn sie es nicht wären, so würde dies allein nicht viel beweisen. Es gibt vielerlei Ursachen, welche Tiere unter Krämpfen akut töten. Aus einer so allgemeinen Wirkung, wie Tod unter Krämpfen, darf man nicht auf eine chemische Identität zweier Gifte schließen.



* Anmerkung bei der Korrektur: Neuere Versuche mit frisch aus Blutegelköpfen hergestelltem Hirudin und mit frischem Hirudin Jacoby gaben andere Resultate. Es gelang, sonst tödliche Organextraktdosen durch vorherige Injektion von Hirudin unschädlich zu machen.

Diskussion:

H. Sachs (Frankfurt a. M.): Einige Versuche, mit denen Herr Dr. Ritz beschäftigt ist, geben mir Anlaß, auf eine Analogie hinzuweisen, welche zwischen der Wirkung von Organextrakten und Kaolinsuspensionen besteht. Es handelt sich dabei um Giftwirkungen, welche zwar bei intravenöser Injektion von Meerschweinchen in den benutzten Dosen (2—3 ccm einer 0,5 proz. Kaolinsuspension) nicht zum akuten Tode führen (wohl aber beim Kaninchen), die aber doch durch schwere Allgemeinerscheinungen sowie durch erhebliche Temperatursenkungen (bis 6°) wohl charakterisiert sind. Diese Giftwirkungen des Kaolins werden nun durch Digerieren mit aktivem Meerschweinchenserum in starkem Maße paralysiert, während inaktiviertes Meerschweinchenserum keinen oder nur einen sehr geringen Einfluß ausübt. Es handelt sich also hier um ein Verhalten, das demjenigen der Wirkung von Blutserum auf Organextrakte entspricht und deshalb vielleicht auch in dieser Hinsicht Beachtung verdient.

---

3. Tag. 1. Juni 1912 vormittags.

Vorsitzende: Petruschky (Danzig), Kraus (Wien).

I. Baerthlein (Groß-Lichterfelde):

Weitere Untersuchungen über Mutationserscheinungen bei Bakterien.[1])

Meine Herren! In früheren Arbeiten[2]) hatte ich bereits über ausgedehnte Untersuchungen bezüglich der bei Bakterien zu beobachtenden Mutationserscheinungen berichtet und dabei festgestellt, daß derartige Vorgänge bei den verschiedensten teils pathogenen teils apathogenen Mikroben nachzuweisen sind. Ich konnte weiterhin zeigen, daß die verschiedenen Mutationsstämme einer Bakterienart sich isolieren und beliebig lange getrennt fortzüchten lassen, daß aber auch bei diesen Mutationsstämmen, sofern sie wieder unter Bedingungen gelangen, unter denen bei der Ursprungskultur die mutationsartigen Abspaltungen einsetzten, wieder atavistische Rückschläge, und zwar anscheinend gesetzmäßig auftreten. Von praktischer Bedeutung war es, daß solche Mutationserscheinungen bei einer Anzahl von Kulturen, die verschiedenen, vorwiegend pathogenen Bakteriengruppen zugehörten, bereits auf den ersten, zu ihrer Isolierung aus dem menschlichen, bzw. tierischen Körper angelegten Plattenaussaaten sich zeigten. In der Zwischenzeit sind von mir die Untersuchungen in dem von Herrn Regierungsrat Prof. Dr. Haendel geleiteten Laboratorium auf die farbstoffbildenden Bakterien, *Staphylococcus pyogenes*, Pneumokokken, Milzbrand, Kapselbazillen, *Bact. coli mutabile* und Diphtherie weiter ausgedehnt worden.

1) Der Vortrag ist außerdem erschienen in Nr. 31 der Deutschen medizinischen Wochenschrift 1912.

2) Berl. klin. Wochenschr. 1911, No. 9, 31; 1912, No. 4, 16; Arbeiten aus d. Kais. Gesundh.-Amt, Bd. 40 (im Druck).



Ueber das Ergebnis der Untersuchungen, soweit sie abgeschlossen vorliegen, soll im Folgenden kurz berichtet werden. Ich möchte indessen gleich vorausschicken, daß ich bei meinen Ausführungen entsprechend dem Wunsche, daß an dieser Stelle nur neue Tatsachen mitgeteilt werden sollen, mich nur auf diese beschränken und in eine theoretische Erörterung des Variationsbegriffes, speziell der Erscheinungen der Mutation und der Modifikation hier nicht einlassen werde.

Was zunächst die farbstoffbildenden Bakterien anlangt, so konnte ich bei sämtlichen von mir geprüften Stämmen des *Bac. prodigiosus* nach Aussaat aus älteren Agar- oder Bouillonkulturen auf der Agarplatte 2—3 deutlich verschiedene Kolonieformen feststellen. Wurden von den einzelnen differenten Kolonien Kulturen angelegt, so ließen sich diese Stämme bei regelmäßiger Weiterimpfung in kurzen Zwischenräumen getrennt beliebig lange fortzüchten und wuchsen dann bei Ausstrichen auf der Agarplatte immer nur in der einen der jeweiligen Ursprungskolonie entsprechenden Kolonieform. Ich erhielt so bei *Bac. prodigiosus* Mutationsstämme, welche auf der Agarplatte nur dunkelrote, undurchsichtige Scheibchen bildeten, ferner solche, die nur in hellen, durchscheinenden, farblosen Kolonien wuchsen, sowie Kulturen, welche ausschließlich saftige, etwas schleimige, rosafarbene Kolonieformen aufwiesen. Bei Agarausstrichen aus älteren Kulturröhrchen sieht man neben diesen 3 beschriebenen Kolonieformen weiterhin auch zahlreiche andere Kolonien eingestreut, welche sich aus den verschiedenartigen Mutationsformen zusammensetzen, z. B. helle Scheibchen mit roten Punkten oder umgekehrt rote Kolonien mit eingefügten, weißlichen Sektoren. Die einzelnen Mutationsformen des *Bac. prodigiosus* unterscheiden sich aber nicht allein durch das verschiedene Farbstoffbildungsvermögen, bzw. den verschiedenen Farbstoffgehalt der einzelnen Kolonien, sondern es bestehen auch sonst im Aussehen der Kolonien weitgehende Differenzen, die dann zutage treten, wenn das Farbstoffbildungsvermögen der Bakterien überhaupt unterdrückt wird. Werden z. B. die isolierten Varietäten bei 37° gezüchtet, so wachsen die sonst dunkelrote Kolonien bildenden Stämme in Form von trüben, gelbweißlichen, saftigen Kolonien, die an sich farblosen Mutationsstämme wiederum als helle, durchscheinende, schwach bläulich schimmernde Scheibchen. Erfolgt die Weiterzüchtung der bei 37° gehaltenen Kulturen später wieder bei Zimmertemperatur, so kehrt das Farbstoffbildungsvermögen bei der ersterwähnten Varietät, und zwar meist sehr schnell wieder zurück, während die farblose Kolonienart auch unter diesen Bedingungen keinen Farbstoff bildet. Den Unterschieden in der Koloniebildung entsprechen auch bei dem *Bac. prodigiosus* weitgehende, morphologische Differenzen der die getrennten Mutationsstämme zusammensetzenden Bakterien. Die roten Kolonien bestehen aus kurzen, dicken, plumpen Stäbchen, die hellen, durchscheinenden aus mittellangen, schlanken, feinen Bazillen.

Bei den isolierten Mutationsstämmen bleiben die charakteristischen Unterschiede der Kolonieform wie auch die morphologischen Differenzen der Bakterien bei der Fortzüchtung auf anderen Nährboden sowie bei Tierpassagen erblich konstant erhalten. Atavistische Erscheinungen in Form von Rückschlägen treten erst wieder auf, wenn die getrennten Varietäten längere Zeit auf ein und demselben Nährsubstrat ohne Weiterzüchtung gelassen wurden, und dann eine Aussaat auf frische Nährmedien erfolgt. Es wuchsen dann z. B. auf der Agarplatte bei Verwendung eines farbstoff-



bildenden Mutationsstammes neben überwiegend farbigen Kolonien auch vereinzelte, farblose, und umgekehrt bei Benutzung einer farbfreien Varietät außer zahlreichen, farblosen Kolonien wieder eine kleine Zahl von farbigen Scheibchen. Zugleich machten sich auch bereits die morphologischen Unterschiede bei den die differenten Kolonien bildenden Bakterien geltend.

Was die biologischen Immunitätsreaktionen betrifft, so zeigten sich bezüglich der Agglutination bei *Bac. prodigiosus* zwischen den einzelnen Mutanten keine Unterschiede. Die Bakterien der farbigen wie der farblosen Mutationsstämme wurden sowohl von dem mit der farbstoffbildenden Varietät wie von dem mittels der farblosen Mutante gewonnenen Kaninchen-Immunserum bis zur Titergrenze agglutiniert.

Entsprechende Verhältnisse finden sich bei *Bac. pyocyaneus*. Bei den zahlreichen untersuchten, mutierenden Pyocyaneus-Kulturen gelang es mir, 2 deutlich verschiedene Kolonieformen festzustellen: einmal trübere, bröckelige, an der Oberfläche eigentümlich trockene Scheibchen und dann glattrandige mehr durchscheinende, feuchte Kolonien. Auch hier bestehen wieder ausgesprochene Unterschiede zwischen den Bakterien der verschiedenen Kolonien. Die trockenen, trüberen Kolonien werden von sehr kurzen, ziemlich dicken Stäbchen gebildet, die feuchten, helleren setzen sich aus längeren, mitteldicken, schlanken Bazillen zusammen.

Aus den beiden Kolonientypen können sich ferner sprunghaft noch eine Anzahl weiterer Mutationsstämme entwickeln, die durch ein mehr oder weniger ausgeprägtes Farbstoffbildungsvermögen charakterisiert sind. Es ließen sich bei den untersuchten Kulturen bei jeder der beiden Kolonieformen noch weiter folgende Mutanten unterscheiden: 1. eine farblose Varietät, 2. eine hellgrüne Varietät, die einen in Wasser löslichen, grünen Farbstoff enthält und bei längerem Stehen dem Nährboden einen hellbraunen Farbenton verleiht, 3. eine dunkelgrüne Mutationsform, bei der den Kolonien eine eigentümlich schillernde, Heringslacke ähnliche, trockene Schlacke aufgelagert ist, die 2 Farbstoffe, nämlich den oben genannten, grünen und einen blauen, in Chloroform löslichen Farbstoff enthält. Bei längerem Stehen nimmt der Nährboden bei dieser Varietät einen schwarzblauen Farbenton an.

Auch hier fand ich bisher bei den einzelnen Unterarten selbst bei Verwendung besonderer, mit bestimmten Varietäten hergestellten Kaninchen-Immunsera keine bemerkenswerten Differenzen hinsichtlich der Agglutinabilität.

Die Mutation, bzw. die atavistischen Rückschläge treten bei *Bac. pyocyaneus* wie bei *Bac. prodigiosus* dann auf, wenn die beimpften Agarröhrchen mindestens 1—2 Monate lang gestanden hatten. Im allgemeinen beobachtet man beim Einsetzen dieser Wachstumsvorgänge auf der Agarplatte jeweils nur 2 von den 6, oben angeführten Pyocyaneus-Mutanten.

Bei einer in unserer Sammlung befindlichen Kultur von *Bact. cyanogenes lactis* verläuft die Mutation ähnlich wie bei den vorstehend behandelten Bakterienarten unter dem Bild einer Aenderung des Farbstoffbildungsvermögens; zugleich bestehen noch weitere Differenzen im Aussehen der Kolonien. Es entwickeln sich beim Auftreten der Mutation auf der Agarplatte einmal helle, zarte, durchscheinende Scheibchen und daneben trübere, saftige, weißlichgrüne Kolonien, die einen schwarzbraunen, in den Nährboden diffundierenden Farbstoff erzeugen und daher in eine nicht deutlich abgegrenzte, dunkelgefärbte Nährbodenzone eingebettet erscheinen. Die helle, nicht farbstoffbildende Varietät besteht aus mittellangen, schlanken Bazillen,



die trüben, den Nährboden dunkelfärbenden Kolonien werden von kurzen, dickeren, plumperen Stäbchen gebildet. Impft man die beiden Mutationsstämme auf Milch über, so beobachtet man nach etwa 10—14 Tage langem Stehen der Nährlösungen bei der mit der trüben Varietät beimpften Milch eine gelbbraune Verfärbung, während das die helle Mutationsform enthaltende Milchröhrchen sein weißes Aussehen unverändert beibehält.

Eigenartig waren die Ergebnisse bei meinen Untersuchungen über etwaige Mutationserscheinungen bei *Staphylococcus pyogenes*. Es gelang mir übereinstimmend bei sämtlichen geprüften *Staphylococcus pyogen. aureus*-Kulturen nach Aussaat aus älteren Bouillonröhrchen auf der Agarplatte neben zahlreichen, dem Ausgangsmaterial entsprechenden, gelben Kolonien auch vereinzelte weiße Kolonien zu finden, welche vollkommen ähnlich wie *Staphylococcus pyogenes albus* wuchsen und bei kurzfristiger Weiterimpfung durchaus konstant blieben. Umgekehrt konnte ich beim Einsetzen der Mutation die Entwicklung von Aureus-Mutanten aus *Staphylococcus pyogenes albus*-Kulturen beobachten. Zwischen den Albus- und Aureus-Mutationsstämmen bestanden ebenfalls deutliche, morphologische Unterschiede der die differenten Kolonien bildenden Kokken. Im allgemeinen waren die Kokken der Aureus-Varietät einer Kultur kleiner, zarter und weniger plump wie diejenigen der Albus-Mutante.

Bei Ueberimpfung auf andere feste Nährböden z. B. Hammelblutagarplatten, Serumplatten treten die Unterschiede zwischen den Aureus- und Albus-Varietäten eines Stammes besonders schön zutage.

Die Agglutinationsprüfung mit den durch Behandlung mit Aureus-, bzw. Albus-Mutationsstämmen von Kaninchen gewonnenen Immunseris ergab für beide Varietäten einer Kultur gleichmäßig hohe Beeinflussung durch beide Serumarten.

Bei einer *Staphylococcus pyogenes citreus*-Kultur der Sammlung konnte ich ferner die Abspaltung einer weißlichbraunen Kolonieform beobachten, die ebenfalls große Konstanz zeigte und sich im Gegensatz zu dem Ausgangsstamm aus etwas größeren, dickeren, plumperen Kokken zusammensetzte.

Die Mutation tritt bei den *Staphylococcus pyogenes*-Kulturen im Vergleich zu den vorher beschriebenen Bakteriengruppen wesentlich später auf, meist erst, wenn die Agarröhrchen ein Alter von 2—3 Monaten, die Bouillonkulturen ein solches von 4—5 Wochen erreicht haben.

Aehnlich, wie ich dies früher bereits bei Streptokokken berichtet habe, spielen sich die Mutationsvorgänge bei den Pneumokokken ab. Es wachsen auf der Agarplatte neben äußerst zarten, bläulich schimmernden, durchscheinenden Kolonien noch etwas größere, gelblichweiße, undurchsichtige Scheibchen. Die erstgenannten Varietät besteht aus feinen, zarten, charakteristischen Diplokokken, die trübe Mutationsform wird von dickeren, plumperen Diplokokken gebildet, welche häufig in kurzen Ketten angeordnet sind. Differenzen in der Kapselbildung, sowie hinsichtlich der Virulenz konnte ich bisher nicht beobachten. Beide Mutationsstämme wurden von einem Pneumokokken-Eselserum gleichmäßig agglutinatorisch beeinflußt.

Bei mutierenden Milzbrand-Stämmen finden wir einmal große, helle, durchscheinende, zerfließende Kolonien und kleinere, saftige, trüb-gelblichweiße Formen. Die letzteren bestehen aus kurzen, dicken, plumpen, schlecht färbbaren Stäbchen, welche reichlich Sporen entwickeln und meist kurze Ketten bilden; die in hellen, durchscheinenden Kolonien wachsende Varietät



setzt sich aus schlankeren, etwas längeren, gut färbbaren Stäbchen zusammen, die meist in langen Ketten angeordnet sind. Die Sporenbildung ist bei dieser Mutationsform in der Regel nicht vorhanden oder nur sehr gering ausgeprägt. Auf den Kolonien beider Mutanten entwickeln sich häufig während der nächsten Tage knopfartig aufsitzende Tochterkolonien, die bei der Weiterzüchtung hinsichtlich der Kolonieform und der Morphologie ihrer Bakterien stets der Mutterkolonie entsprechende Verhältnisse aufweisen. Ob diese Knopf-Kolonien sich von den entsprechenden Mutterkolonien doch vielleicht durch besondere Eigenschaften weiterhin unterscheiden lassen, die erst bei bestimmten Bedingungen zur Beobachtung gelangen, ist gegenwärtig noch Gegenstand besonderer Untersuchungen.

Die einzelnen Varietäten besitzen auch bei Tierpassage eine beträchtliche Konstanz. So erhielt ich z. B. bei Ausstrichen aus dem Herzblut einer erst nach 5 Tagen gestorbenen, mit Bakterien des hellen Mutationsstammes intraperitoneal geimpften Maus wiederum nur die hellen, durchscheinenden Kolonien des Ausgangsmaterials auf einer größeren Platternserie, bei einer anderen erst nach 6 Tagen eingegangenen, in der gleichen Weise mit den Bazillen der trüben, gelblichweißlichen Varietät infizierten Maus bei Aussaat von Herzblut nur die trüben Kolonien des zur Injektion verwendeten Mutationsstammes. Einen bemerkenswerten Unterschied in bezug auf die Virulenz der beiden Mutanten konnte ich bei den bisher von mir geprüften Stämmen nicht feststellen.

Was das sonstige kulturelle Verhalten betrifft, so bleiben die verschiedenen Kolonieformen und die morphologischen Differenzen der Bakterien bei Uebertragung auf andere feste Nährboden z. B. Blutagarplatten in voller Deutlichkeit erhalten; dagegen vermochte ich hinsichtlich des Wachstums in Bouillon und in Gelatinestichkulturen zwischen den beiden Varietäten keinen durchgreifenden Unterschied festzustellen. Man findet bei den beiden Mutationsstämmen in den Bouillonröhrchen teils gleichmäßige Trübung der Nährlösung teils ein Wachstum in Form eines wolkigen Bodensatzes, ferner zeigt sich in Gelatinestichkultur zumeist die charakteristische Wurzelbürstenform, die indessen bei einzelnen Stämmen fehlen, bzw. nicht deutlich ausgesprochen sein kann.

Die Mutation, bzw. die atavistischen Rückschläge setzen bei Milzbrand erst bei mehrere Wochen alten Kulturen ein.

Bei einigen von mir isolierten, stark schleimbildenden Kapselbazillen-Kulturen, welche sich kulturell dem *Bact. coli* ähnlich verhalten, kommen beim Auftreten der Mutationsvorgänge neben hellen, zarten, durchsichtigen noch trübe, weißliche, stark lichtbrechende Kolonien vor. Auch bei diesen Varietäten finden wir entsprechende, morphologische Differenzen der Bakterien. Der helle Mutationsstamm, dessen Kolonien sich im Gegensatz zu der stark klebrigen, Faden ziehenden, trüben Varietät leicht von dem Nährboden abstreichen lassen, besteht aus längeren, schlanken Stäbchen, während der trübe Mutationsstamm von kurzen, dicken, plumperen Bazillen gebildet wird. Interessant waren die Unterschiede bezüglich der Kapselbildung bei den differenten Bakterien. Auch bei meinen Kulturen wiesen, wie dies Gildemeister bei einem anderen mutierenden Kapselbazillenstamm festgestellt hatte, die Bakterien der trüben Mutante große, weite Kapseln auf im Gegensatz zu den nur von einer engen, schmalen Kapsel eingeschlossenen Bazillen der hellwachsenden Kolonieform.

Meine Herren! Zum Schlusse möchte ich noch in Kürze über einige



Beobachtungen bei einem von mir isolierten, dem *Bact. coli mutabile* ähnlichen Stamm berichten, der bei 8tägiger Beobachtung auf den Differentialnährboden die charakteristischen Reaktionen der *Bact. coli*-Gruppe aufwies, auf dem Drigalski-Nährboden dagegen in Form typhusähnlicher, blauer Kolonien wuchs. Ich züchtete von dieser Kultur zunächst die beiden, für die *Bact. coli*-Stämme charakteristischen Mutationsstämme. Diese bilden auf der Agarplatte, wie ich dies an anderer Stelle ausführlich beschrieben habe, einmal helle, durchscheinende Kolonieformen, die aus mittellangen, schlanken Stäbchen bestehen, und ferner trübe, gelblich-weiße, saftige Kolonien, die sich aus kürzeren, dickeren, plumperen Bazillen zusammensetzen. Bei der Ueberimpfung auf Lackmus-Laktose-Agar wuchsen nun die beiden Varietäten dieses Stammes in hellen, feinen, bzw. in trüberen, saftigen, blauen Scheibchen. Vom 3. Tag ab waren wie bei *Bact. coli mutabile* weiße Knöpfe und zwar gleichmäßig bei beiden Mutationsstämmen zu beobachten. Die aus den Knöpfen gezüchteten Tochterkolonien hatten beide die Fähigkeit, Laktose aufzuspalten, und bildeten also auf dem Drigalski-, bzw. dem Endo-Nährboden rote Kolonien. Zugleich konnte ich aber durch Kontrollplatten von Agar feststellen, daß die beiden Tochterstämme die sonstigen Eigenschaften der Mutterkolonien beibehalten hatten, daß also die Laktose vergärenden Kolonien der hellen Varietät auf Agar wiederum helle Scheibchen mit schlanken, längeren Stäbchen bildeten, andererseits der entsprechende Knopfstamm der trüben Varietät auf Agar in Form trüber, undurchsichtiger Kolonien mit kurzen, plumpen Bazillen wuchs. Wir sehen also bei ein und derselben Coli-Kultur plötzlich noch eine 3. und 4. Varietät auftreten, die sich von den beiden Mutterarten nur durch eine neue Eigenschaft, nämlich durch die Laktose-Vergärung, unterscheiden.

Von allen Autoren, welche bisher über *Bact. coli mutabile* berichtet haben, wurde ausdrücklich hervorgehoben, ein Rückschlag sei äußerst selten bei der neuen, Zucker aufspaltenden Varietät beobachtet worden, und die rotwachsenden Kolonien blieben durchaus konstant, es komme stets nur zur neu einsetzenden Knopfbildung bei den blauwachsenden Mutterkolonien. Da ich meinen Untersuchungen über Mutation indessen regelmäßig atavistische Rückschläge beobachtet hatte, so schien es mir nicht ausgeschlossen, daß unter gewissen Bedingungen auch bei den rotwachsenden Mutationsstämmen von *Bact. coli mutabile* regelmäßig derartige Rückschläge auftreten könnten. Ich habe daher eingehende, systematische Untersuchungen nach dieser Richtung vorgenommen. Ich legte mir von den 4 oben erwähnten und zwar sowohl von den beiden blauwachsenden wie von den beiden rote Kolonien bildenden Mutationsstämmen je 1 Agarröhrchen an, nachdem bei längeren Passagen über Drigalski-Agar die Stämme sich stets als vollkommen rein und beständig erwiesen hatten, und impfte jeden Tag auf Kontrollplatten von Lackmus-Laktose-Agar, bzw. gewöhnlichen Agar über. Die blauwachsenden Varietäten entwickelten auch bei dieser täglich fortgesetzten Abimpfung stets wieder blaue Kolonien, auf denen sich vom 3. Tag ab regelmäßig Knöpfe bildeten. Erst nach etwa 6 Wochen langem Stehen der Agarröhrchen konnte ich auf der Agarplatte bei der täglichen Ueberimpfung plötzlich das Auftreten von Mutation feststellen in der Art, daß neben den zahlreichen Kolonien des Ausgangsstammes noch vereinzelte Kolonien der entsprechenden anderen Varietät, also z. B. bei Benutzung des hellen Mutationsstammes neben vorwiegend hellen, durchscheinenden Scheibchen noch vereinzelte, trübe, gelbweiße Kolonien wuchsen. Bei der hellen, rotwachsenden Varietät dagegen



konnte ich vom 6. Tag ab und bei dem trüben, ebenfalls rote Kolonien bildenden Mutationsstamm vom 7. Tag ab bei jeder folgenden Aussaat aus dem Agarröhrchen das Auftreten atavistischer Rückschläge beobachten. Es wuchsen auf dem Drigalski-Nährboden beide Male neben zahlreichen, roten Kolonien des Ausgangsstammes noch einzelne, blaue Scheibchen, die bezüglich der Koloniebildung auf Agar und im morphologischen Aussehen der Bakterien stets den Kolonien der zugehörigen Mutterformen, also bei der hellen, roten Varietät den hellen, blauwachsenden Kolonien, bei dem trüben, rotwachsenden Mutationsstamm den trüben, blauen Kolonien entsprechen. Der Rückschlag führt also nur zu dem Mutationsstamm der Mutterkolonie zurück, und ein Sprung z. B. von der trüben, roten Varietät zur hellen, blauen findet nicht statt. Es kommt also auch bei den sekundären Mutationsstämmen, nämlich den rot wachsenden Tochterstämmen zu atavistischen Rückschlägen noch dazu ziemlich früh, nämlich bei der hellen Varietät vom 6. Tag ab, bei der trüben vom 7. an, also erheblich früher wie bei den primären Mutationsstämmen, den Mutterkolonien, bei denen, wie oben erwähnt, die atavistischen Erscheinungen erst nach 6 Wochen einsetzen.

Daß es sich um atavistische Erscheinungen handelt, die den Mutationsvorgängen im Wesen durchaus ähnlich sind und nur einen Sprung nach rückwärts bedeuten, nicht aber um sog. Modifikation, konnte ich durch weitere Versuche feststellen. Wenn ich nämlich die erwähnten beiden roten Varietäten stets auf gewöhnlichem Agar hielt und sie tagtäglich auf frischen Agarplatten weiterzüchtete, so trat, wie ich durch tägliche Aussaat auf Kontroll-Blauplatten nachwies, trotzdem also die Bakterien ständig auf einem laktosefreien Nährboden gehalten wurden, Atavismus nicht auf, und es kamen stets nur laktosevergärende, rote Kolonien bei beiden Varietäten zur Entwicklung.

Einen weiteren Beweis für die Konstanz der roten Mutationsstämme, der wiederum gegen die Annahme einer Modifikation spricht, erbrachten die Tierversuche. Ich impfte weiße Mäuse mit je einem der 4 oben erwähnten Mutationsstämme und erhielt dann bei Ausstrichen aus dem Herzblut der an Colisepsis eingegangenen Tiere stets nur die Kolonien der betreffenden, bei der Injektion benutzten Varietät. Es ließen sich also aus dem Herzblut der mit der hellen, bzw. trüben, roten Varietät geimpften Tiere wieder nur helle, bzw. trübe, rote Kolonien auf dem Lackmus-Laktose-Agar züchten, umgekehrt konnte ich aus dem Blut der mit dem hellen, bzw. trüben, blauwachsenden Mutationsstamm infizierten Mäuse nur helle, bzw. trübe, blaue, knopfbildende Kolonieformen isolieren.

Auch bei einer Anzahl mutierender Diphtherie-Kulturen ist es mir gelungen, verschiedene Varietäten zu isolieren, die im Koloniebild, im morphologischen Verhalten der Bazillen und, was praktisch von Bedeutung wäre, endlich in der Virulenz ausgesprochene Differenzen erkennen lassen. Doch bedürfen diese Befunde noch weiterer, eingehender Prüfung, so daß ich bestimmte Mitteilungen über diese Verhältnisse noch nicht machen kann.

Auch diese Untersuchungen bringen sonach eine Bestätigung der früher von mir bereits mitgeteilten Beobachtungen, indem bei diesen verschiedenartigen Bakterien ebenfalls regelmäßig Mutationserscheinungen auftreten, und auch hier anscheinend gesetzmäßig atavistische Rückschläge bei den isolierten Mutationsstämmen erfolgen.



II. Eisenberg (Krakau):

Ueber Artumwandlung bei Bacillus anthracis.

Erscheint im Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale, Bd. LXVI.

III. Eisenberg (Krakau):

Ueber sogenannte Mutationsvorgänge bei Choleravibrionen.

Erscheint im Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale, Bd. LXVI.

Diskussion zu den Vorträgen I—III:

Baerthlein (Gr. Lichterfelde): Herr Eisenberg schlägt eine mehrere Tage lang während Beobachtung der frischen Mutationskolonien vor. Ich habe mich im allgemeinen auf eine 24^h—48^h Beobachtung aus praktischen Gesichtspunkten beschränkt, weil man für gewöhnlich speziell bei Untersuchungen von verdächtigem Material, wo bei der Isolierung der Bakterien die Mutation eine praktisch wichtige Rolle spielt, mit 24^h—48^h alten Kulturen arbeitet. Es würde mich interessieren, zu erfahren, ob Herr Eisenberg auch morphologische Differenzen zwischen den Vibrionen der verschiedenartigen Kolonien gefunden hat. Nach seinen Mitteilungen besitzen ferner die gelbweiß, trüb wachsenden Mutationsstämme bei Cholera eine größere Konstanz als die helle, durchscheinende Kolonien bildende Varietät, die mehr zu atavistischen Rückschlägen, bzw. zu Mutation neigen soll. Nach meinen Erfahrungen bestehen nach dieser Richtung keine nennenswerten Unterschiede zwischen den einzelnen Mutationsstämmen einer Kultur. Vielleicht erklärt sich dieser Widerspruch aus einer verschiedenen Technik bei der Isolierung der einzelnen Varietäten. Ich habe meine Mutationsstämme erst nach genauer mikroskopischer Kontrolle der die betreffenden Kolonien bildenden Bakterien endgültig isoliert. Man kann nämlich häufig beobachten, daß bei frisch mutierenden Kulturen die Unterschiede im Koloniebild sehr schön und deutlich ausgeprägt sind, daß aber trotzdem im gefärbten Ausstrichpräparat sich einzelne, morphologisch der anderen Kolonienart entsprechende Vibrionen unter den übrigen Bakterien eingestreut vorfinden. Impft man nun von einer solchen Kolonie ohne weiteres ab, so wird man nach kurzer Zeit bei neuen Ausstrichen auf der Agarplatte wieder differente Kolonien antreffen und so den Eindruck einer neu einsetzenden Mutation, bzw. von atavistischen Rückschlägen gewinnen. Es dürfte sich also bei der Isolierung von Mutationsstämmen stets eine gleichzeitige mikroskopische Kontrolle der Bakterien der verschiedenen Kolonien auf ihre Gleichartigkeit empfehlen.

Petruschky (Danzig): Herr Eisenberg hat von „Artumwandlung" des Milzbrandbazillus gesprochen. Diese Ausdrucksform ließ Sensationelleres erwarten als die Umzüchtung sporogener Milzbrandrassen in asporogene. Die Ausdrucksform „Artumwandlung" erinnerte an die alten Versuche, Milzbrandbazillus und Heubazillus ineinander umzuwandeln, die Herr Eisenberg glücklicherweise nicht wiederholt hat. Ich kann es nicht für gleichgültig halten, wenn die eingebürgerten botanischen Begriffe „Art" (Spezies), „Unterart" (subspezies), „Spielart" (varietas) beliebig untereinander vertauscht werden. Es bleibt dann kein ruhender Pol in der Erscheinungen Flucht. Wir kommen zu dem „*πάντα ῥεῖ*" des alten griechischen Philosophen und damit hört alle Wissenschaft auf.

Ich möchte vorschlagen, den Namen Art (Spezies) nur für die großen Gruppen mit relativ stabilen Merkmalen, wie „Milzbrandbazillus", Heubazillus, *Bac. prodigiosus* usw. zu verwenden. Die Unterarten mit besonderen Merkmalen aber, sofern die Merkmale schwanken, als „Spielarten", sofern sie relativ fest bleiben, als „Stämme" oder mit



dem aus dem Tierreich übernommenen Ausdruck „Rassen" zu bezeichnen. Herr Eisenberg hat uns also „Rassenumwandlungen" innerhalb der Art Milzbrandbazillus gezeigt. Ich will damit seine Beobachtungen nicht herabsetzen. „Rassenumwandlungen" sind schon keine Kleinigkeiten! Artumwandlungen bei Bakterien sind meines Wissens bisher noch nicht beobachtet worden.

Seligmann (Berlin):

Ich möchte Einspruch erheben gegen die Definition, die Herr Petruschky soeben von dem Begriffe „Art" gegeben hat. Alle die hier mitgeteilten und die anderen Versuche laufen ja doch darauf hinaus, die Grenzen unserer Artbestimmungsbegriffe zu prüfen und eventuell zu verschieben. Wenn dann dekretiert wird: Art ist nur das, was konstant ist, so wird ein Weiterkommen auf diesem Gebiete unmöglich gemacht; gerade die Frage nach der Konstanz der Arten ist es ja, die im Mittelpunkt der Versuche und Debatten steht. Und diese Frage sollte man nicht durch aprioristische Sätze beantworten.

Herr Bärthlein hat eine Diskussion über die Frage der Mutation abgelehnt; das ist ja ganz bequem und von seinem Standpunkt aus vielleicht berechtigt; hat er doch in seinem Vortrage mit diesem Begriff in einer Weise gespielt, die von dem Wesen der Mutation nicht mehr viel übrig läßt. Wohin soll es führen, wenn man von Rückschlägen spricht und ausführt, sie treten so plötzlich auf, daß man sie als Mutationen deuten müsse. Mutationen nach vorwärts und rückwärts, hin und her! Es handelt sich doch nicht um Wortfragen, sondern um naturwissenschaftliche Probleme.

Die mitgeteilten Beobachtungen sind praktisch gewiß von Bedeutung, sie sind ja auch den meisten Bakteriologen schon lange bekannt; neuartig ist nur ihre Deutung als Mutation. Neben all den anderen Gründen sprechen aber auch die Demonstrationsobjekte des Vortragenden selbst gegen eine solche Erklärung: Der demonstrierte, angeblich mutierte *Staphylococcus albus* ist auf diesen Platten nichts als ein etwas blaß tingierter *aureus*, wie man sie häufig zu sehen bekommt; auch die farblose Pyocyaneusabart zeigt an einzelnen Stellen deutlich schwachgrüne Färbung. Ich glaube nicht, daß es berechtigt ist, bei derartigen quantitativen Abweichungen der Pigmentbildung von Mutationen zu sprechen.

Petruschky (Danzig): Herr Seligmann hat mich offenbar mißverstanden. Ich stehe durchaus auf dem Standpunkt der Darwinschen Theorie und will das Vorkommen von Mutationen keineswegs bestreiten, bin aber mit meinem Lehrer Robert Koch der Meinung, daß die Mutationen der Bakterien nur in recht engen Grenzen sich bewegen. Darüber hinaus gibt es gerade in der Biologie der Bakterien relativ feste Eigenschaften, welche nie mehr so schwanken, daß man von der Umwandlung einer „Art" in eine andere bekannte „Art" sprechen könnte. Ich will nur diese bereits eingebürgerte Verwendung des Wortes „Art" als Bezeichnung für das relativ Beständige festgehalten wissen.

Händel (Gr. Lichterfelde): Herr Bärthlein ist, wie er dies ja auch erwähnt hat, nur aus dem Grunde nicht auf eine theoretische Erörterung des Mutationsbegriffes eingegangen, weil von ihm in einer größeren zurzeit im Druck befindlichen Arbeit diese Frage ausführlich erörtert wird und außerdem die hier zur Verfügung stehende Zeit zu einer Aussprache hierüber nicht ausreichen würde. Das Auftreten von atavistischen Rückschlägen steht aber keineswegs mit dem Mutationsbegriff in Widerspruch, wie von Herrn Seligmann angenommen wurde, ich verweise in dieser Hinsicht auf entsprechende Angaben von de Vries selbst sowie auf die vor kurzem erschienene, interessante Arbeit von Beyerink. Bei den Untersuchungen des Herrn Bärthlein scheint mir besonders bemerkenswert, daß derartige Vorgänge sich bei allen untersuchten Bakterienarten nachweisen ließen, daß ferner, was in praktischer Hinsicht von besonderer Bedeutung, diese Erscheinung schon bei der Isolierung der Bakterien aus dem menschlichen und tierischen Organismus zu beobachten ist, und endlich gerade der Nachweis, daß anscheinend gesetzmäßig in allen Fällen, sobald die Bakterien unter Bedingungen kommen, unter denen die Mutationsvorgänge ausgelöst wurden, auch wieder atavistische Rückschläge eintreten.

Baerthlein (Schlußwort): Herr Seligmann hat bei zwei Demonstrationsobjekten Beanstandungen gemacht, nämlich, daß man auf der Agarplatte, die auf der einen Hälfte mit einem Farbstoff bildenden, auf der anderen mit einem farblosen Mutationsstamm einer *Bact. pyocyaneus*-Kultur beimpft war, bei den Kolonien der farblosen Varietät auch an einer Seite geringe Farbstoffmengen sehen könne, ferner daß meine Albus-Kulturen nicht rein weiß seien, sondern einen schwach gelblichen Farbenton hätten, daß also bei meinen Unter-



suchungen keine reinen Albus-Formen vorlägen. Demgegenüber möchte ich auf die bekannte Tatsache hinweisen, daß bei *Bact. pyocyaneus* der Farbstoff in den Nährboden diffundiert. Wenn also auf einer Platte nebeneinander zwei Varitäten, eine Farbstoff bildende und eine farblose, der genannten Kultur ausgestrichen sind, so ist es ganz natürlich, daß die Kolonien des farblosen Mutationsstammes an der Stelle des Nährbodens, wo sie in nächster Nähe der farbigen Kolonien liegen, von dem in den Nährboden übergehenden Farbstoff schwach gefärbt werden. Auf meiner Demonstrationsplatte ist aber mit aller Deutlichkeit zu sehen, daß die von den Farbstoff bildenden Mutationsformen weiter entfernt liegenden Kolonien der farblosen Varietät durchweg farbfrei sind. Daß die Albus-Kolonien meiner mit Formalin behandelten Demonstrationsplatten nicht mehr ihren ursprünglichen, porzellanweißen Farbenton besitzen, sondern infolge der durch die Art der Abtötung (Formalin) bedingten Schrumpfung und Trübung jetzt mattweißgrau erscheinen, wird für jeden, der in der Formalinkonservierung von Kulturen Erfahrung besitzt, ganz erklärlich erscheinen.

Herr Seligmann hat mir ferner den Vorwurf der Bequemlichkeit gemacht, weil ich hier auf eine theoretische Erörterung der Variation, speziell des Mutationsbegriffes nicht eingehen möchte. Meine Stellungnahme beruht indessen nicht auf Bequemlichkeit, sondern nimmt Rücksicht auf den allgemein geäußerten Wunsch, nur neues Tatsachenmaterial an dieser Stelle vorzubringen in Anbetracht unserer kurz bemessenen Zeit. Zudem komme ich, wie dies Herr Prof. Händel schon erwähnt hat, in einer bereits im Druck befindlichen, größeren Arbeit ausführlich auf die verschiedenen Erscheinungen der Variation überhaupt zu sprechen und behandle auch eingehend die Ursachen der Mutation, soweit sie durch meine Untersuchungen bisher klargelegt werden konnten, speziell auch die wichtige, die Mutationsvorgänge prädisponierende Rolle des menschlichen, bzw. tierischen Organismus.

Was die von Herrn Prof. Kolle geforderten Einzell-kulturen bei Cholera betrifft, so habe ich bereits an anderer Stelle hervorgehoben, daß das Tuscheverfahren nach Burri sich leider bei Cholera nicht anwenden läßt, weil die Choleravibrionen dabei absterben. Es ist mir aber gelungen, mit Hilfe der Burrischen Methode bei Typhus, Ruhr u. a. Einzellkulturen zu gewinnen und bei diesen genau in der gleichen Weise wie bei den übrigen Stämmen Mutation, bzw. Atavismus zu beobachten. Bei der Mutation handelt es sich im wesentlichen um ein plötzliches Sichtbarwerden von einzelnen neuen Eigenschaften, die nicht von außen her plötzlich erworben werden, sondern im Zellorganismus bereits schlummernd liegen und sich durch bestimmte Einflüsse auch sprunghaft erst entwickeln. Man kann auch beim Auftreten der beschriebenen Wachstumsvorgänge nicht ohne weiteres sagen, ob es sich um Mutation oder atavistische Rückschläge bei einer Kultur handelt, weil man nicht weiß, welche der verschiedenen Varietäten ursprünglich in der Natur vorhanden war.

Eisenberg (Krakau): Die Forderung von Herrn Kolle, bei Mutationsuntersuchungen sich des Burri-Verfahrens zwecks Erlangung von Einzellkulturen zu bedienen, ist leider in dieser Form nicht zu erfüllen, da, was Herr Kolle wohl entgangen ist, die große Empfindlichkeit der Choleravibrionen derartige Versuche vereitelt, doch lassen sukzessive Plattenisolierungen, die Häufigkeit der betreffenden Abweichungen sowie die Rückschläge diese kritischen Bedenken als übertreiben erscheinen. Der Vorwurf, Begriffe wie ein „zusagender Nährboden" „dysgenetische Faktoren" und dgl. seien in exakten Untersuchungen unzulässig, muß als ebenfalls übertrieben und die Eigenart von biologischen Untersuchungen verkennend zurückgewiesen werden, findet man ja auch bei de Vries Angaben, daß bessere oder schlechtere Düngung des Versuchsfeldes, Austrocknung der Samen u. dgl. die Art und Extensität der Mutationen stark beeinflussen. Die Behauptung Herrn Kolles, alle bisher beobachteten „Mutationserscheinungen" bei Bakterien seien degenerativer Natur und führten nie zu Vorwärtsentwicklung — eine Behauptung, mit der man ungerechter Weise derlei Erscheinungen abtun möchte, entbehre jeder Grundlage und sei ganz willkürlich. Von der Phylogenie der Bakterien wissen wir trotz der hypothetischen Versuche von Jensen, Kruse u. a. eigentlich so gut wie gar Nichts — und es ist daher reine Phantasie, wenn man dies oder jenes Merkmal als progressiv oder regressiv bezeichnet. Wir haben vielfach von rein anthropozentrischen Gesichtspunkten ausgehend Merkmale, die für uns von besonderer Bedeutung sind (Pathogenität, Spaltungsvermögen u. dgl. gewisse diagnostische Merkmale) stark hervorgehoben und ihren eventuellen Verlust als Degeneration bezeichnet. Vom objektiven Standpunkt ist aber ein derartiges Vorgehen als recht bedenklich zu verwerfen. Mit der Behauptung, äußere Einflüsse könnten am Protoplasma überhaupt nichts ändern und Nichts aus ihm hervorbringen, was nicht bereits darin enthalten wäre, stellt sich Herr Kolle in schroffen Gegensatz zur Evolutionstheorie und bekennt sich eigentlich zum Standpunkt von Linné: „Naturae tot sunt diversae formae, quot ab initio creavit infinitum Ens". Auch steht diese Behauptung in einem auffallenden Widerspruch zu dem Standpunkt, den Kolle in der vor paar Monaten erschienenen Cholera-



monographie (im Handbuch von Kolle-Wassermann II. Aufl. 4. Lief.) in dieser Frage eingenommen hat, wo er die verschiedenen Formen der Cholerakolonien als Mutationserscheinungen anspricht.

Gegenüber den Verwahrungen der Herren Gärtner sowie Petruschky betont Eisenberg, daß seine Artumwandlung freilich anders gemeint sei als die Behauptungen von Naegeli, Büchner, Rodet u. a. Die Art sei in der modernen Botanik nicht mehr „das Stehende in der Erscheinungen Flucht" — vielmehr zerfalle die Darwinsche „Großart" immer mehr in Kleinarten (das Hungerblümchen Draba verna nach Jordan z. B. in 117 Kleinarten). Wenn also für praktische Zwecke natürlich noch weiter an der Großart als einer diagnostischen Einheit wird festgehalten werden müssen, darf man sich der Erkenntnis nicht verschließen, daß es in diesen Grenzen eine große Mannigfaltigkeit gibt, deren Entstehungs- und Existenzbedingungen eingehend zu untersuchen sind. Es wird sich bei derartigen Analysen vielleicht herausstellen, daß für die Großart die Variationsbreite ihrer Kleinarten ebenso charakteristisch ist, wie andere bis jetzt in den Vordergrund gerückte Merkmale.

IV. Titze (Groß-Lichterfelde):

Beitrag zur spezifischen Therapie der Tuberkulose.

Umfangreiche und methodisch durchgeführte Untersuchungen über die therapeutische Beeinflussung tuberkulöser Prozesse bei Tieren sind meines Wissens noch nicht veröffentlicht worden. Diese auffallende Tatsache wird ihren Grund vor allem darin haben, daß derartige an Laboratoriumstieren angestellte Versuche kein ermutigendes Ergebnis zeitigen.

Wohl die besten Versuchstiere zur Klärung der Frage nach dem Werte der spezifischen Heilmethode bei der Tuberkulose sind die Rinder, weil sie häufig spontan an Tuberkulose erkranken, und weil die Rindertuberkulose in der Regel chronisch verläuft und zuweilen ausheilt.

Ich konnte vor 2 Jahren über den ermutigenden Ausfall der Tuberkulintherapie bei 6 Kühen berichten. Auch von anderer Seite sind Belege dafür erbracht, daß eine sachgemäß durchgeführte Tuberkulintherapie die beginnende Tuberkulose des Rindes zum Stillstand bringen kann. Ist die Tuberkulose bereits bis zu einem gewissen Grade vorgeschritten, so läßt sich mit der Tuberkulintherapie nur wenig ausrichten. Es ist aber schon damit genützt, wenn in einem gewissen Teilsatze die Anfangsstadien der Tuberkulose, aus denen sich immer wieder neue Infektionsquellen entwickeln, zur Heilung gebracht werden.

Hätte man die Absicht, durch die fortgesetzte Tuberkulinisierung eine die Tuberkelbazillen tötende Immunität zu schaffen, die auf der Produktion irgendwelcher Antikörper beruhte, so würde man vorteilhafter ein Antigen verwenden, das schonender hergestellt worden ist als das in so grober Weise durch lange dauerndes Einkochen bereitete Tuberkulin. Wir haben jedoch bisher keine Anhaltspunkte dafür, daß sich der tuberkulöse Organismus mit Hilfe von Antikörpern seiner Feinde erwehrte. Natürlich bilden sich auch auf den parenteralen Abbau von Tuberkelbazillenproteinen hin die entsprechenden spezifischen Reaktionsprodukte. Aber nichts spricht dafür, daß diese Reaktionen bei den Heilungsvorgängen eine wesentliche Rolle spielen.

Der pathologisch-anatomische Befund beim tuberkulösen Rinde weist vielmehr darauf hin, daß der Organismus die Parasiten wohl auf die Weise



unschädlich zu machen sucht, daß er sie in den Reaktionsherden fixiert, in eine Bindegewebskapsel einschließt und so aus dem Körper ausschaltet. In einem solchen eingekapselten und verkalkten Herde halten sich die Tuberkelbazillen lange in ihrer vollen Virulenz, bis sie ganz allmählich zugrunde gehen, weil sich die für ihre Vermehrung erforderlichen Bedingungen verlieren. Ich glaube, daß der Sauerstoffmangel hierbei eine Rolle spielt.

Sicher gibt es außerdem noch andere Ursachen, die es oft verhindern, daß die in den Digestions- oder Respirationstraktus eines Wirtstieres gelangten Tuberkelbazillen zur Herrschaft kommen. Ich habe gesehen, daß ältere gute Milchkühe in Beständen mit stark verbreiteter Tuberkulose, in denen 6 Jahre lang jährlich die Tuberkulinprobe ausgeführt wurde, niemals reagiert haben, obwohl sie derselben Infektionsgefahr wie die übrigen Tiere ausgesetzt waren. Die Tuberkuloseforschung würde sicher gefördert werden, wenn derartige Tiere einerseits durch subkutane und intravenöse Infektion und andererseits durch Infektionen, die den natürlichen Verhältnissen möglichst entsprechen, auf ihre Tuberkuloseresistenz hin geprüft würden. Bei den vielen subkutanen und intravenösen Infektionen, die ich bei Rindern ausgeführt habe, habe ich kaum erheblichere individuelle Resistenzunterschiede wahrgenommen. Ich neige deshalb zu der Ansicht, daß die Unterschiede in dem Verhalten der Rinder gegenüber mittelgradigen natürlichen Infektionen vornehmlich auf denselben Ursachen beruhen, die es bedingen, daß bei dem besten Reagenz auf Tuberkelbazillen, dem Meerschweinchen, spontan Tuberkulose so selten ist: die Tuberkelbazillen können von der Körperoberfläche, wozu auch die Oberflächen der Schleimhäute zu rechnen sind, bei diesen Tieren unter den gewöhnlichen Verhältnissen nicht in den Organismus gelangen. Die Schleimhäute lassen die Tuberkelbazillen nicht eindringen, so daß die Konstitution der Schleimhäute als die wesentliche Ursache für die Seltenheit „spontaner“ Tuberkulose zu betrachten ist. Einen Gegensatz bildet die für Tuberkelbazillen leicht durchgängige Schleimhaut des Verdauungskanals der Schweine. Allgemein wird angenommen, daß die Schleimhaut des Verdauungskanals vieler Tierarten in ihrer frühen Jugend die Tuberkelbazillen leichter durchtreten läßt als später.

Sind aber virulente Tuberkelbazillen, wenn auch nur in ganz geringer Zahl in das Innere des Meerschweinchenkörpers gelangt, so kommt es zu einer unheilbaren Krankheit. So vorzüglich der Organismus des Meerschweinchens sich gegen das Eindringen von Tuberkelbazillen geschützt hat, so wenig vermag er gegen die eingedrungenen Parasiten auszurichten. Deshalb läßt sich bei Meerschweinchen eine spezifische Tuberkulosetherapie auch nicht erproben, wovon ich mich durch zahlreiche Versuche überzeugt habe.

Meerschweinchen, die gleich nach der subkutanen Infektion fortgesetzt behandelt wurden, und zwar mit Tuberkulin, Tuberkulin und zugleich Lecithin, mit einem im Handel befindlichen Präparate, Tuberkulosan genannt, mit sog. sensibilisierten Tuberkelbazillen, mit steril filtrierten Preßsäften aus den verschiedensten tuberkulösen Organen von Meerschweinchen und Rindern, mit Exsudaten von tuberkulösen Meerschweinchen, verhielten sich genau wie die Kontrollen. Gegen 200 Meerschweinchen sind zu den Versuchen verwendet worden.

Man könnte jetzt von den an Meerschweinchen gewonnenen negativen Ergebnissen ausgehend verallgemeinern und sagen, es gelinge überhaupt nicht, mit den genannten spezifischen Präparaten auf den Verlauf der Tuberkulose im günstigen Sinne einzuwirken. Bevor aber nicht die gleichen nega-



tiven Ergebnisse bei anderen Tierarten und namentlich in umfangreichen Untersuchungen beim Rinde vorliegen, halte ich einen derartigen Schluß für unberechtigt. Ich werde die Versuche an Kaninchen wiederholen, obwohl ich auch diese Tierart nicht für besonders geeignet halte, weil ihr Verhalten gegenüber den bovinen Tuberkelbazillen dem der Meerschweinchen gegen Säugetiertuberkelbazillen überhaupt ähnelt.

Es ist verständlich, daß ein Heilprozeß, der auf bindegewebiger Einschließung tuberkulöser Herde unter gleichzeitiger Verkalkung derselben beruht, durch die Tuberkulintherapie unterstützt werden kann.

Die auf die Einwanderung von Parasiten hin erfolgenden Reaktionen des Tierkörpers sind in erster Linie Abwehrprozesse. Aus dem natürlichen Verlaufe der Tuberkulose müssen sich demnach die Heilbedingungen ablesen lassen, und so verdienen alle besonderen Momente, von denen ich einige herausgreifen will, eingehende Berücksichtigung:

Die verschiedenen Organe eines Tieres und die entsprechenden Organe bei verschiedenen Tierarten zeigen erhebliche Unterschiede in ihrer Disposition für tuberkulöse Erkrankungen. Einen extremen Fall stellen die Meerschweinchennieren dar, in denen Tuberkulose sehr selten vorkommt, während wir bei Kaninchen das Gegenteil sehen. Die funktionsfähige Muskulatur aller Tierarten erweist sich gegen Tuberkulose sehr resistent. Man könnte annehmen, daß die Kontraktilität die Ansiedelung der Tuberkelbazillen verhindere. Ich halte jedoch einen anderen Grund für wahrscheinlicher. In der Muskulatur aller Warmblüter spielt die Anoxybiose eine große Rolle. Sauerstoff ist bei weitem nicht genügend vorhanden, und so muß der Muskel bei erheblichem O-Mangel arbeiten, was sich durch den starken Glykogenschwund und das Auftreten von Milchsäure als Endprodukt des Stoffwechsels dokumentiert. Der O-Mangel in der Muskulatur scheint es mir nun allein zu sein, der das Gedeihen der Tuberkelbazillen verhindert. Die chemischen Bestandteile der Muskeln schädigen die Tuberkelbazillen höchstwahrscheinlich nicht. Ich habe Muskelpreßsäfte auf Tuberkelbazillen in vitro 2—3 Tage lang einwirken lassen und hierdurch keine Virulenzverminderung erzielt. Das unterschiedliche Verhalten der Nieren der Meerschweinchen und der Nieren der Kaninchen ist noch Gegenstand meiner weiteren Untersuchungen.

Besondere Beachtung bei der Tuberkulosetherapie verdient weiterhin das Verhältnis der Lymphdrüsen zu den Tuberkelbazillen.

Dienen die Lymphdrüsen nur dazu, die Tuberkelbazillen abzufangen und zu fixieren oder besitzen sie auch die Fähigkeit, die Tuberkelbazillen in ihrer Entwicklung zu hemmen und gar abzutöten?

Dem Anschein nach ist nur der erste Teil der Frage bejahend zu beantworten; denn bei natürlicher Tuberkulose sehen wir nicht, daß die Tuberkelbazillen in den Lymphdrüsen weniger virulent wären als die in den anderen Organen. Bringt man aber fein zerschnittene, steril entnommene Lymphdrüsen des Rindes mit Tuberkelbazillen-Emulsionen zusammen und läßt sie 2—3 Tage im Brutschrank bei 37° stehen, so verlieren die Tuberkelbazillen erheblich an Virulenz, ja sie können für Meerschweinchen völlig apathogen werden. Es scheint, als ob die Tuberkelbazillen stärker geschädigt würden, wenn man dem Gemisch etwas Tuberkulin hinzufügt. Worauf eine derartige Schädigung im Reagenzglase beruht, vermag ich nicht zu sagen. In Ausstrichpräparaten zeigen solche Tuberkelbazillen unter dem Mikroskop keine Veränderung. Die mit dem Gemisch geimpften Meerschweinchen werden aber nur geringgradig oder auch gar nicht tuberkulös. Ich nehme nun nicht etwa an, daß durch die besprochene Methode nur einseitig die Virulenz

der Tuberkelbazillen vermindert werde, ich bin vielmehr davon überzeugt, daß die Vitalität derselben überhaupt geschädigt wird.

Auf die eigentümlichen Erscheinungen bei den tuberkulösen Superinfektionen will ich nicht eingehen, obwohl sie sicher wichtige Momente auch für die spezifische Tuberkulosetherapie in sich bergen. Für die Ursachen der Resistenz geringgradig Tuberkulöser gegenüber mittelstarken Neuinfektionen habe ich keine Erklärung.

Folgende Schlußsätze geben eine kurze Zusammenfassung meiner Ausführungen:

1. Nichts weist mit einiger Sicherheit darauf hin, daß der Organismus die eingedrungenen Tuberkelbazillen mit Hilfe von Antikörpern oder durch Phagocytose vernichtet.

Gegebenenfalls müßten sich bei der Tuberkulose mit schonend aus Tuberkelbazillen hergestellten Antigenen bessere therapeutische Wirkungen erzielen lassen als mit Tuberkulin. Auch die mangelhaften Ergebnisse der zahlreichen bei Rindern ausgeführten Schutzimpfungen sprechen gegen das Entstehen einer auf Anreicherung von bakterientötenden Antikörpern beruhenden Tuberkuloseimmunität.

2. Die Resistenz mancher Tierarten und Individuen gegenüber der natürlichen Tuberkuloseinfektion ist wohl auf die besondere Konstitution der Schleimhäute zurückzuführen, die die Tuberkelbazillen nicht durchdringen können.

3. Von allen spezifischen Heilmethoden bei der Tuberkulose hat bisher die Tuberkulintherapie am meisten Erfolg gehabt. Um aber hier völlige Klarheit zu schaffen, sind umfangreiche Versuche an tuberkulösen Rindern angezeigt, bei denen sich der etwaige Heilerfolg jederzeit durch die Erhebung der Schlachtbefunde kontrollieren läßt.

4. Die Heilung tuberkulöser Prozesse scheint vorwiegend auf den Neubildungsvorgängen im Organismus zu beruhen, die einmal die eingedrungenen Tuberkelbazillen fixieren und ihnen in den gefäßlosen Knötchen, vielleicht durch O-Mangel, die Lebensbedingungen allmählich verschlechtern. Durch bindegewebige Einkapselung der tuberkulösen Herde werden die Tuberkelbazillen aus dem Körper ausgeschaltet. Daß derartige Heilungsvorgänge durch eine sachgemäße Tuberkulintherapie gefördert werden können, leuchtet bei der Wirkungsart des Tuberkulins ein.

V. Kraus, R. und Hofer, G. (Wien):

Über Auflösung der Tuberkelbazillen im tuberkulösen Organismus.

Die gegen Tuberkelbazillen bisher bekannten Antikörper sind Opsonine und Bakteriotropine, welche im Serum gesunder und vaccinierter Menschen nachgewiesen werden können. Die Tuberkelbazillen wie allgemein angenommen wird, werden im Organismus phagozytiert, und die Phagocytose allein soll das Zugrundegehen der Tuberkelbazillen im Organismus erklären. Die Untersuchungen Wrights und seiner Schüler zeigen, daß der tuberkulöse Organismus Opsonine in viel geringerem Maße als der gesunde besitzt. (Auf der Herabsetzung des opsonischen Index des Tuberkulösen basiert



auch Wright eine Diagnose der Tuberkulose.) Damit wäre ein Gegensatz geschaffen gegenüber der festgestellten Tatsache, daß bei Infektionskrankheiten im Verlaufe derselben eine Vermehrung der spezifischen Antikörper zustande kommen kann. Sind wir ja doch vielfach geneigt die Spontanheilung bei Infektionskrankheiten mit der Neuproduktion von Antikörpern in Zusammenhang zu bringen.

Diese Befunde sind auch nicht imstande, gewisse Feststellungen, welche man experimentell bei der Tuberkulose erheben konnte zu erklären. Schon Robert Koch hat gezeigt, daß ein tuberkulös infiziertes Meerschweinchen auf eine Reinfektion nicht mehr mit einem tuberkulösen Affekt reagiert. Spätere Versuche haben dieses Grundexperiment nachgeprüft und bestätigt gefunden. Kraus, Grosz und Volk konnten bei experimenteller Hauttuberkulose der Affen evident nachweisen, daß ein tuberkulöser Primäraffekt in der Haut (Augenbraue) eine Immunität gegen eine Reinfektion (Augenbraue) setzt. Gleichzeitig hat Römer an Meerschweinchen und Schafen, später Hamburger übereinstimmende Resultate mitgeteilt. Nach all diesen Versuchen, auch nach den jüngsten von Römer, welche natürliche Verhältnisse der Tuberkuloseinfektion nachahmen, steht es zweifellos fest, daß der tuberkulös infizierte Organismus gegen eine Reinfektion immun ist: Diese Feststellungen einerseits und andererseits die Befunde Wrights über die Herabsetzung des opsonischen Index bilden den Ausgang unserer Untersuchungen über die Ursache der erhöhten Schutzkraft des tuberkulös infizierten Organismus einer Reinfektion gegenüber.

Die Versuche, über welche im folgenden berichtet werden soll, sind am Meerschweinchen, welche mit Tuberkelbazillen infiziert waren, ausgeführt. Es hat sich darum gehandelt, zu ermitteln, ob bei peritonealer Reinfektion dieser Tiere Unterschiede gegenüber gesunden Meerschweinchen nachweisbar sind. Die Technik ist dieselbe, wie sie Pfeiffer in seinen Peritonealversuchen uns gelehrt. Es wurden bestimmte Mengen (eine Oese) fein verriebener in physiologischer Kochsalzlösung suspendierter möglichst junger Glyzerinagarkulturen peritoneal injiziert und nach 15, 30, 45, und 60 Min. bis zu 24 Stunden mittels Kapillaren Exsudat entnommen und nach der Methode von Ziehl-Neelsen gefärbt. (Zu bemerken wäre, daß nicht jeder Stamm für diese Versuche geeignet zu sein scheint, ganz ähnlich, wie wir es auch von Versuchen mit Choleravibrionen wissen. Manche Stämme zeigen schon im gesunden Peritoneum Auflösungserscheinungen, so daß sie für diese Versuche nicht brauchbar sind.) Von den zahlreichen Versuchen, die wir am infizierten Tier ausgeführt haben, seien einzelne als Typen hier angeführt.

I. Versuch.

Tier 669.	Infiziert mit humanem Stamm am 12. XII. 1911; reinfiziert mit humanem Stamm Stummvoll 19. III. 1912.
Nach 10 Min.	Exudat mononuclear, rot gefärbte Bazillen spärlich, blau gefärbte Bazillen mit Körnchen in reichlicher Anzahl.
Nach 30 Min.	Exsudat mononuclear, zahlreiche blaue Kügelchen frei, einzelne blau gefärbte Bazillen, rot gefärbte Bazillen spärlich.
Tier 867.	Infiziert mit tuberkulösem Harn am 8. XII. 1911;



	reinfiziert mit humanem Stamm Stummvoll am 19. III. 1912.
Nach 10 Min.	Spärliches mononucleares Exsudat, ganz vereinzelte Bazillen.
Nach 30 Min.	Exsudat spärlich, einzelne wenige Bazillen.
Kontrolltier 464.	Infiziert am 19. III.
Nach 10 Min.	Zellreiches mononucleares Exsudat, einzelne polymorphkernige. Extrazellulär gut gefärbte Bazillen (rot), Phagocytose.
Nach 30 Min.	Extrazellulär gut gefärbte Bazillen, Phagocytose.

II. Versuch.

Tier 460.	Infiziert am 7. XII. Intrakutan mit humanem Stamm (reinfiziert subkutan 15. I.). Peritoneal-Versuch mit Typus bov. am 13. III. 1912.
Nach 20 Min.	Spärliches mononucleares Exsudat, Bazillenbefund nahezu negativ. Der größte Teil der nachweisbaren Bakterien ist gequollen, oder sieht wie angenagt aus, schwache Färbbarkeit, auch blau gefärbte Individuen.
Nach 45. Min	Befund deckt sich mit dem vorhergehenden. Man sieht einzelne wenige wie angenagte Bazillen, wie oben eine außerordentlich starke Abnahme der Bazillen überhaupt.
Kontrolltier 229.	Gesundes Kontrolltier: Infiziert am 13. III. mit einer Oese Typus bovinus.
Nach 20 Min.	Exsudat mononuclear, viele freie Bazillen.
Nach 45 Min.	Exsudat reichlicher, polymorphkernig, viele freie Bazillen, einzelne wenige blaue Formen, Phagocytosekeine, keine Kügelchen.

III. Versuch.

Tier 708.	Infiziert mit Geflügelstamm am 30. XI. intrakutan; reinfiziert am 30. I. mit humanem Stamm intrakutan. Peritoneal-Versuch mit einer Oese Geflügel am 12. III.
Nach 30. Min.	Exsudat mononuclear, zahlreiche blaue Kügelchen, manche intensiv dunkel tingiert, gut gefärbte Bazillen sehr spärlich.
Nach 1 Stunde.	Exsudat mononuclear, hie und da ein polymorphkernige Leukocyten, viel extrazelluläre Kügelchen, einige wenige noch erhaltene Bazillen, von denen die einen phagocytiert sind, die freien blaue Kügelchen aufweisen; außerdem sieht man geblähte blau konturierte, schwach sich färbende stecknadelkopfgroße und darüber schmutzig violette Körner (Scheiben).
Nach 17 Stunden.	Exsudat monopolynuclear, hie und da ein phagocytierte Stäbchen.
Kontrolle.	
Gesundes Tier 27.	Peritoneal-Versuch mit einer Oese Geflügeltuberkulose.
Nach 30 Min.	Exsudat mononuclear, zahlreiche gut gefärbte Stäbchen, daneben blaue Kügelchen in größerer Anzahl, einzelne

blaue Stäbchen, hier und da segmentierte Formen mit dünneren und dickeren Enden, mehrere blaue Granula enthaltend.

Nach 1 Stunde. Exsudat monopolynuclear, die Kügelchenbildung hat zugenommen, daneben eine große Menge noch gut erhaltener Bazillen, einzelne blaßgefärbte unscharf konturierte Stäbchen, vielfach schon Phagocytose.

Nach 17 Stunden. Extrazelluläre, und phagocytierte Bazillen zahlreich, keine Kügelchen.

IV. Versuch.

Tier 530. Infiziert am 12. XII. subkutan mit humanem Stamm (reinfiziert intrakutan mit demselben Stamm). Peritoneal-Versuch mit bovinem Stamm 11. III.

Nach 1 Stunde. Exsudat bei der Entnahme fadenziehend, dick mononucleare Leukocyten, einzelne wenige polymorphkernige. Bakterienbefund negativ.

Nach 6 Stunden. Exsudat mononuclear, keine Bazillen.

Kontrolle.

Gesundes Tier 732. Peritoneal-Versuch mit bovinem Stamm. Exsudat größtenteils polynuclear, Bazillen frei und phagocytiert in sehr reichlicher Anzahl, von den extrazellulären ist der größte Teil gut gefärbt einzelne sind indes unschärfer konturiert, in ihrer Färbbarkeit herabgesetzt.

Nach 6 Stunden. Freie Bazillen zerstreut und in Haufen, gut gefärbt, sehr starke Phagocytose, Exsudat größtenteils polymononuclear. Zu demselben Versuch gehört Tier 89, nach dem gleichen Modus infiziert wie Tier 530, und ein gesundes Tier, deren Peritonealbefund sich vollständig mit den bei den ersten zwei Tieren deckt.

V. Versuch.

Tier 914. Infiziert mit Geflügeltuberkulose am 31. X. 1911 (reinfiziert mit humanem Stamm am 30. I.). Versuch mit Geflügeltuberkulose Stamm A eine Oese 20. III.

Nach 15. Min. Spärliches größtenteils mononucleares Exsudat Bazillen zahlreich, gut gefärbt, einzelne Kügelchen.

Nach 40 Min. Exsudat mononuclear, Kügelchenbildung nimmt stark zu, Bazillen spärlich, gut gefärbt, allenthalben im Gesichtsfeld zerstreut.

Nach 1 Stunde. Exsudat monopolynuclear, Kügelchen im Gesichtsfelde zerstreut, sich gut färbende Bazillen, stellenweise Phagocytose.

Nach 24 Stunden Polynucleares Exsudat, zerstreute Kügelchen, blau gefärbt, ziemlich zahlreich, keine extrazellulären Bazillen ganz spärliche Phagocytose, stellenweise sieht man noch Kügelchen.

Kontrolle.

Gesundes Tier 249. Versuch mit einer Oese Stamm Geflügel.



Nach 15 Min.	Deckt sich mit dem beim infizierten Tier.
Nach 40 Min.	Exsudat monopolynuclear, Bazillenbefund reichlich, hie und da ein Kügelchen.
Nach 1 Stunde.	Exsudat monopolynuclear, Bazillen extrazellulär und phagozytiert, reichlich Bazillen, teilweise segmentierte daneben Kügelchen, blau gefärbt.

VI. Versuch.

Tier 280.	Infiziert intratracheal am 12. II. Versuch mit humanem Stamm 21. III.
Nach 15 Min.	Exsudat mononuclear, Bazillenbefund negativ.
Nach 30. Min.	Exsudat mononuclear, sehr reichlich blaue Punkte und Stäbchen, keine Bazillen.
Nach 3 Stunden.	Mononucleares Exsudat, vereinzelte polynucleare, keine Bazillen.
Kontrolle.	
Gesundes Tier 247.	
Nach 15. Min.	Exsudat spärlich mononuclear, Bazillen in Haufen und isoliert, Bazillenbefund gleich dem nach 15 Min.
Nach 3 Stunden.	Exsudatpolymononuclear, Bazillen frei und phagocytiert.

VII. Versuch.

Tier 140.	Infiziert am 30. XI. 1911 mit humanem Stamm (reinfiziert am 8. I. 1912 mit humanem Stamm). Peritoneal-Versuch mit bovinem Stamm am 18. III.
Nach 15 Min.	Exsudat mononuclear, zahlreiche extrazelluläre gut gefärbte Bazillen, daneben blaue Formen, viele weisen einen hellen stark lichtbrechendes Centrum auf mit einer rot gefärbten Randzone (Siegelringform), daneben geschrumpfte Formen schwach gefärbt.
Nach 45 Min.	Mononucleares Exsudat, Bazillen allenthalben in größerer Anzahl im Gesichtsfeld zerstreut, die Degenerationen sind verschwunden.
Nach 7 Stunden.	Polynucleares Exsudat, spärlich phagocytierte Bazillen, keine freien Kügelchen.
Kontrolltier.	Versuch mit bovinem Stamm.
Nach 15 Min.	Mononucleares Exsudat, zahlreiche gut gefärbte Bazillen.
Nach 45 Min.	Exsudat mononuclear, Bazillenbefund gleich.
Nach 7 Stunden.	Polynucleares Exsudat, spärlich frei, viele phagocytierte Bazillen.

VIII. Versuch.

Tier 210.	Infiziert am 20. III. mit bovinem Stamm, Reinjection mit Vogeltuberkulose Stamm A. 12. IV.
Nach 15 Min.	Reichlich mononucleares Exsudat, zahlreiche Bazillen, gut gefärbt, daneben viele mit roten Kügelchen und blauen in den Leibern.
Nach 45 Min.	Befund bleibt gleich.



Nach 2 Stunden. Exsudat monopolynuclear, Phagocytose und extrazelluläre Bazillen, daneben Kügelchen.

Nach 3 Stunden. Phagocytose, jedoch nicht so reichlich wie in der Kontrolle, keine extrazellulären.

Kontrolle.

Gesundes Tier 16. Versuch mit Vogeltuberkulose Stamm A.

Nach 15. Min. Zahlreiche Tuberkelbazillen, gut gefärbt, segmentierte Formen mit roten und blauen Kügelchen, keine freien Kügelchen, Exsudat mononuclear, einzelne polymorphkernige.

Nach 45 Min. Zahlreiche Bazillen, stellenweise mit Kügelchen, in den Leibern einzelner Individuen schwach gefärbt, Exsudat mono- und polynuclear.

Nach 2 Stunden. Starke Phagocytose, sehr viel extrazelluläre gut gefärbte Bazillen, daneben auch Kügelchen frei.

Nach 3 Stunden. Starke Phagocytose, einzelne extrazelluläre.

Tier 596. Infiziert am 20. III. 1912 mit bovinem Stamm, Peritoneal-Versuch mit bovinem Stamm A. am 12. IV.

Nach 15 Min. Zahlreich mononucleares Exsudat, Bazillenbefund reichlich, jedoch fast ausnahmslos blaue Kügelchen, Leibern, eine größere Anzahl freier Kügelchen.

Nach 45 Min. Mononuclear, polynucleares Exsudat, viele blaue Stäbchen, viel Kügelchen, wenig extrazelluläre Bazillen.

Nach 2 Stunden. Exsudat monopolynuclear, zahlreiche Kügelchen, ganz vereinzelte Bazillen.

Nach 3 Stunden. Exsudat polynuclear viele Kügelchen ganz vereinzelte Phagocytose.

Kontrolle.

Gesundes Tier 854. Versuch mit bovinem Stamm Baumgarten.

Nach 15 Min. Zahlreiche gut gefärbte Bazillen, Exsudat monopolynuclear.

Nach 45 Min. Exsudat polynuclear, extrazelluläre Bazillen und Phagocytose, keine Kügelchen.

Nach 2 Stunden. Polynucleares mononucleares Exsudat, extrazellulär gut gefärbte Bazillen, Phagocytose, daneben eine große Anzahl Kügelchen.

Nach 3 Stunden. Polynucleares Exsudat, Phagocytose, hie und da extrazellulär, stellenweise in Haufen.

Wenn wir nun die Resultate aller Versuche zusammenfassend betrachten, so sehen wir zunächst, daß schon bei gesunden Tieren, wie es bereits Markl[1]) in seiner Arbeit beschrieb, nach verschiedenen Zeiten, gewöhnlich erst nach Ablauf von 1 Stunde und mehr, selten früher Veränderungen in den extrazellulär liegenden Bazillen nachweisbar sind. Man sieht die blauen Körnchen im schwächer rot gefärbten Bazillenleib auftreten, daneben sieht man auch isolierte blaue Körnchen von derselben Größe, auch größere intensiv blau gefärbte. Außer diesen Formen beobachtet man beim gesunden Tiere nach 1 Stunde neben extrazellulären

[1]) Zentralbl. f. Bakt. 1905, Bd. 38.

hauptsächlich phagocytierte Bazillen. Erst nach vielen Stunden verschwinden die extrazellulären, so daß man nur mehr phagocytierte Bazillen nachweisen kann. Verfolgt man aber das Schicksal der Tuberkelbazillen im Peritoneum (subkutan peritoneal, intrakutan oder intratracheal) infizierter Tiere, so sieht man schon häufig nach 15—30 Min. ein Bild, welches von demjenigen, bei normalen Tieren als Kontrolle herangezogenen, wesentlich abweicht. Man kann sehen, daß innerhalb dieser kurzen Zeit in den rot gefärbten Bazillen blau gefärbte Kügelchen auftreten, so daß die Tuberkelbazillen sehr ähnlich den Diphtheriebazillen werden. Die Kügelchen sind einzeln oder auch zu mehreren in den Bazillen vorhanden, dabei kann der Leib intensiv gefärbt sein, oder nur angedeutet rote Färbung aufweisen. Ein andermal sieht man ganz deformierte, wie Splitter aussehende, mit einer hellen Kapsel umgebene rot gefärbte Bazillen. Diese Verschiedenheit der hier beschriebenen Veränderungen an den Tuberkelbazillen dürfte jedenfalls von dem Alter und vielleicht Virulenz der zur Verwendung gelangenden Stämme abhängen. Sehr häufig indes findet man nach 15—30 Min. nur sehr wenig gut erhaltene Bazillen, dafür aber blau gefärbte Kügelchen von verschiedener Größe, von den allerfeinsten, bis zur Kokkengröße; gewöhnlich sind sie intensiv blau gefärbt, nicht selten, besonders die größeren von ihnen mit einem rötlichen Schimmer. Diese Körnchen erinnern lebhaft an die beim Pfeifferschen Peritonealversuch aufgelösten Choleravibrionen.

Die geringe Zahl der Tuberkelbazillen im Vergleich zum Kontrollpräparat und der Nachweis solcher Körnchen in den Bazillenleibern sowie im freien Zustande läßt den naheliegenden Schluß zu, daß man es hier mit einer Tuberkulolyse zu tun haben. Man kann, wenn man viel untersucht, ganz ähnlich wie es Kraus und Clairmont bei der Bakteriolyse mit Taubenserum beschrieben haben, die Genese dieser Kügelchen verfolgen. Es treten zunächst distinkte rote Körnchen im Tuberkelbazillus auf; diese verlieren dann ihre Säurefestigkeit, so daß in einem späteren Stadium man nur blaugefärbte Körnchen im Leib nachweisen kann. Die Leibessubstanz verschwindet, daher die schwach gefärbten schattenähnlichen Bazillen mit blau gefärbten Körnchen. Zum Schlusse sieht man dann nur extrazellulär liegende blaue Punkte, wenig Bazillen und endlich werden auch diese Körnchen vollständig gelöst, wie beim Pfeifferschen Peritonealversuch. Man findet danach nur Exsudat mit ganz spärlichen phagocytierten Bazillen. In der Kontrolle können zur selben Zeit entweder zahlreich extrazelluläre und phagocytierte oder nur letztere nachgewiesen werden. Auch das Aussehen des Exudates ist bei den infizierten Tieren ein anderes als bei den gesunden. Mononucleare Leukocyten (Exsudat fadenziehend) sind lange Zeit noch vorhanden, zu welcher Zeit schon bei gesunden polynucleare Leukocytose aufgetreten ist.

Dieses Phänomen der Bakteriolyse mit Stamm des Typus humanus und bovinus konstatiert man beim Meerschweinchen, die mit Tuberkelbazillen von Typus bovinus und humanus infiziert sind. Weitere Versuche haben noch gelehrt, daß Tuberkelbazillen vom Typus avium bei derart infizierten Tieren einer so intensiven Bakteriolyse nicht unterliegen. Wohl aber kann man nachweisen, daß diese Bazillen der Geflügeltuberkulose bei Tieren, die mit Typus avium infiziert waren, ebenfalls starker gelöst werden als im Peritoneum von gesunden Tieren und solchen die mit Typus humanus und bovinus infiziert sind.

Aus all diesen Befunden geht unzweifelhaft hervor, daß die Tuberkel-



bazillen im Organismus außer durch Phagocytose auch durch Bakteriolyse zugrunde gehen können. Im gesunden Organismus dürfte der Phagocytose die Hauptrolle zufallen, im tuberkulösen aber der Bakteriolyse.

Außer Markl, wie schon erwähnt wurde, hat Bail[1]) sich mit der Frage des Schicksales der Tuberkelbazillen im Organismus beschäftigt und gelangt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Resultat, „daß die Auflösungsfähigkeit der Körperflüssigkeiten Tuberkulöser gesteigert sein mag“. Bail hat speziell auch auf die Verschiedenheit der Exsudate von gesunden und tuberkulösen Tieren hingewiesen. Nach einem Citat von Deycke und Much (Münch. med. Woch. 1909 No. 39) hat bereits v. Behring eine Auflösung der Tuberkelbazillen im Organismus beschrieben. Auch Deycke und Much haben anschließend an die in vito beobachtete Auflösung der Tuberkelbazillen mittels Neurin und Cholin eine solche bei gesunden und namentlich bei tuberkulösen Meerschweinchen mitgeteilt (Münch. med. Woch. 1909 und Beitr. zur Klinik d. Tuberk. Bd. XV 1910). Im Bd. XX der Beitr. zur Klinik der Tuberk. beschäftigen sich Much und Leschke mit der Auflösung der Tuberkelbazillen bei Meerschweinchen, welche mit aufgelösten Tuberkelbazillen vorbehandelt worden sind. Solche Tiere sollen nach Much und Leschke Tuberkelbazillen vollständig aufzulösen vermögen. Eine Konstanz und Gesetzmäßigkeit, wie sie hier durch unsere Untersuchungen nachgewiesen wurde. war nach den vorliegenden Angaben der Literatur bisher nicht erbracht worden.[2])

Die nachgewiesene Immunität des tuberkulösen Organismus einer Rein fektion gegenüber dürfte sich demnach mit dem gesteigerten bakteriolytischen Vermögen desselben recht gut in Einklang bringen lassen. Der Tuberkulöse verfügt über mehr Bakteriolysine im Vergleiche zum Gesunden, dagegen über weniger Opsonine und Bakteriotropine, wie es Wright nachwies.

Es war noch zu entscheiden, ob im Serum des Tuberkulösen die Ursache für die Bakteriolyse gelegen sei. Versuche, welche wir in dieser Richtung mit dem Serum von tuberkulösen Meerschweinchen, sowie mit menschlichen Seris angestellt haben und welche wir im folgenden wiedergeben, scheinen in dem Sinne zu sprechen, daß im Serum Substanzen vorhanden sind, welche die Bakteriolyse im Peritoneum der Tiere bedingen.

Versuch mit Serum vom Tier 160, infiziert mit humanem Stamm am 15. XII.

Versuch mit humanem Stamm, als Kontrolle Serum vom normalen Tier.

Tier 87.	Serum 0,01. Versuch mit humanem Stamm.
Nach 20 Min.	Exsudat mononuclear, spärlich freie Bazillen, spärliche Phagocytose.

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1905 No. 9.

[2]) Inzwischen sind diese Versuche fortgesetzt worden. Die Resultate der weiteren Arbeit sind in der Wiener klin. Wochenschr. 1912 No. 29 mitgeteilt. Es hat sich ergeben, daß alle säurefesten Bakterien sich im Peritonealversuch so wie Tuberkelbazillen verhalten. Wir glauben auch, daß diese Methode zur Differenzierung säurefester Bakterien sich als brauchbar erweisen dürfte.



Nach 45 Min.	Vorwiegend mononucleares Exsudat, ganz vereinzelte Bazillen, Kügelchen.
Nach 2 Stunden.	Spärliches Exsudat vorwiegend mononuclear; extrazelluläre Bazillen in geringer Zahl, sehr zahlreiche Kügelchen.
Kontrolle.	
Tier 952.	Serum vom gesunden Tier 0,01, Versuch mit humanem Stamm.
Nach 20. Min.	Mononucleares Exsudat, extrazelluläre Bazillen gut gefärbt, ganz vereinzelte Kügelchen.
Nach 45 Min.	Polynucleares Exsudat, zahlreiche extrazelluläre und phagocytierte Bakterien, wenige Kügelchen.
Nach 2 Stunden.	Polynucleares Exsudat, wenig extrazelluläre zahlreiche Phagocytose, Kügelchen zerstreut.

Versuch mit Meerschweinchenserum vom Tier 708, infiziert mit Geflügelstamm am 30. X., reinfiziert mit humanem Stamm am 15. XII, als Kontrolle Serum vom normalen Tier.

Tier 638.	Serum 0,1. Versuch mit einer Oese Stamm Geflügel.
Nach 30 Min.	Exsudat mononuclear, einzelne Bazillen in schleimigen Hüllen frei, keine phagocytierten.
Nach 1 Stunde.	Mononucleares Exsudat, einzelne wenige extrazelluläre Bazillen, ganz spärliche Phagocytose.
Kontrolltier 652.	Serum vom gesunden Tier 0,1. Versuch mit einer Oese Geflügel.
Nach 30 Min.	Monopolynucleares Exsudat, extrazelluläre gut gefärbte Bazillen zahlreich, daneben Phagocytose.
Nach 1 Stunde.	Polynucleares Exsudat, phagocytierte Bazillen zahlreich.

Versuch mit menschlichem Serum (Tuberkulose).

Tier 863.	
Kontrolle.	Infiziert mit einer Oese Stamm bovinus.
Nach 30 Minuten.	Mononucleares Exsudat, zahlreiche extrazelluläre Bazillen, gut gefärbt, stellenweise blaue Kügelchen in schwächer gefärbten Bazillen, einzelne Hantelformen und freie Kügelchen.
Nach 1 Std. 15 M.	Polynucleares Exsudat, Phagocytose, zahlreiche extrazellulär gut gefärbte Bazillen, ganz spärliche Kügelchen.
Nach 6 Stunden.	Polynucleares Exsudat, Phagocytose, extrazelluläre Bazillen in größerer Menge gut gefärbt, keine Kügelchen.
Nach 24 Stunden.	Polynucleares Exsudat, stellenweise großzellig mononucleare Phagocytose, sehr zahlreich extrazelluläre Bazillen spärlich, wenig Kügelchen.
Tier 615.	Infiziert mit einer Oese Stamm bovinus und 0,1 tuberkulöses Serum.
Nach 30 Min.	Mononucleares Exsudat, zahlreiche Kügelchen mit spärlich dazwischen liegenden rot gefärbten Bazillen.



Nach 1 Std. 15 M. Exsudat monopolynuclear, zahlreiche Kügelchen, daneben einzelne extrazelluläre gut gefärbte Bazillen sowie phagocytierte.

Nach 6 Stunden. Polynucleares Exsudat, phagocytierte Bazillen, wenig extrazelluläre Kügelchen.

Nach 24 Stunden. Polynucleares Exsudat, extrazelluläre und phagocytierte, Bazillen, daneben Kügelchen.

Tier 740. Infiziert mit einer Oese Stamm bovinus, dazu 0,1 tuberkulöses Serum.

Nach 30 Min. Exsudat mononuclear, äußerst zahlreiche Kügelchen, blaue Stäbchen, Kügelchen, Degenerationsformen, Schatten, einzelne wenig gut gefärbte Bazillen.

Nach 1 Std. 30 M. Exsudat monopolynuclear, zahlreiche Kügelchen, sehr spärlich extrazelluläre Bazillen, Phagocytose schwach.

Nach 6 Stunden. Polynucleares Exsudat, ganz spärlich Phagocytose, keine freien Bazillen, Kügelchen.

Nach 24 Stunden. Polynucleares Exsudat, ganz vereinzelte Phagocytose, hier und da extrazelluläre.

Kontrolltier 625. Infiziert eine Oese bovinus Stamm Normalserum 0,1.

Nach 30 Min. Mononucleares Exsudat, zahlreiche extrazelluläre Bazillen, stellenweise mit blauen Körnern in den Leibern, zahlreiche Kügelchen, Bazillen stellenweise in Haufen zusammengeballt, gut gefärbt.

Nach 1 Std. 15 M. Sehr stark polynucleares Exsudat, extrazelluläre Bazillen reichlich, daneben Kügelchen Phagocytose schwach.

Nach 6 Stunden. Polynucleares Exsudat spärlich, mononuclear extrazelluläre Bazillen reichlich, daneben auch blaue Formen, spärliche Phagocytose, freie Kügelchen ziemlich zahlreich.

Nach 24 Stunden. Polynucleares Exsudat, Kügelchen ziemlich zahlreich, phagocytierte Bazillen gut gefärbt, wenig extrazelluläre.

Wohl kommt auch dem normalen Serum, von Mensch und Tier, wie aus den Versuchen hervorgeht, die Fähigkeit der Tuberkulolyse zu. Dem Serum der Tuberkulösen ist sie in erhöhter Weise eigen. Ob es in vitro ohne Leukocyten gelingen dürfte die Tuberkulolyse nachzuweisen, läßt sich vorderhand noch nicht mit absoluter Sicherheit behaupten, wiewohl einzelne Versuche in diesem Sinne sprechen.

Durch die vorliegenden Untersuchungen ist die Analogie mit anderen Infektionskrankheiten hergestellt, und wir können wohl annehmen, daß der tuberkulöse Organismus Bakteriolysine für Tuberkelbazillen in erhöhtem Maße produziert. Diese Bakteriolysine lassen sich im Serum nachweisen und es liegt daher nahe, die spontanen Heilungsvorgänge bei Tuberkulose, sowie die Immunitätsphänomene damit in Beziehung zu bringen.

VI. Hammer (Heidelberg):

Die Komplementbindungsreaktion bei Tuberkulose.

(Autorreferat.)[1])

Bisher haben die Versuche, mittels der von Wassermann und Bruck angegebenen Methode der Komplementbindung in dem Serum tuberkulöser Menschen Antikörper nachzuweisen, zu praktisch verwertbaren Resultaten nicht geführt. Hiermit überein stimmten auch Hammers seit mehreren Jahren fortgesetzten zahlreichen Versuche, die sich erst in letzter Zeit besserten als eine scheinbar geringfügige Aenderung der Methodik eingeführt wurde und als neben dem Tuberkulin als Antigen noch Extrakt aus tuberkulösem Gewebe verwandt wurde. Auf diese Weise wurden 46 Fälle von Tuberkulose untersucht, darunter befanden sich

35	Lungentuberkulosen
7	Chirurgische Tuberkulosen
1	Drüsentuberkulose
3	Lupusfälle
46	

Unter diesen 46 Fällen zeigten 43 die Komplementablenkung in ausgesprochener Weise. Für den negativen Ausfall in 3 Fällen führt Hammer besondere Gründe an.

Außerdem wurde in gleicher Weise Rinderblut untersucht, mit Perlsuchttuberkulin und Extrakt aus tuberkulösem Gewebe vom Rind als Antigen untersucht.

Von 26 untersuchten Rindern reagierten 20 positiv, 6 negativ. Nach den Schlachthausprotokollen waren von diesen 26 Rindern nur 19 tuberkulös uud 7 tuberkulosefrei.

Da der tuberkulöse Sektionsbefund bei den Rindern zum Teil sehr minimal war, so hält es Hammer für möglich, daß bei dem einen angeblich tuberkulosefreien Rind ein geringer Tuberkulosebefund übersehen worden ist.

Hammer glaubt auf Grund seiner Resultate, daß es möglich sein wird, die Methode der Komplementablenkung bei Tuberkulose zu einer für klinische und praktische Zwecke brauchbaren auszugestalten.

---

[1]) Der Vortrag erscheint in der „Münchener mediz. Wochenschr.“.



VII. B. Möllers (Berlin):

Komplementbindende Antikörper und Tuberkulose.

Seit der grundlegenden Entdeckung der Komplementbindungsreaktion durch Bordet und Gengou sind auch bei der Tuberkulose die komplementbindenden Antikörper Gegenstand zahlreicher Untersuchungen geworden.

Die Literaturangaben über das Vorkommen und die Bedeutung dieser Antikörper weichen teilweise erheblich voneinander ab. Der Hauptgrund hierfür ist wohl in der verschiedenen Technik der Komplementbindungs-Untersuchungen zu suchen. Es ist daher schwer, die Untersuchungsergebnisse verschiedener Autoren in Parallele zu stellen. Aus diesem Grunde möchte ich mich hier ausschließlich auf die Untersuchungen beschränken, welche von Robert Koch unter Mitwirkung von Prof. Pfuhl, Stabsarzt Rothe und dem Referenten begonnen und nach seinem Tode auf der Tuberkuloseabteilung des Instituts „Robert Koch" fortgeführt wurden.

Komplementbindende Antikörper gegenüber Tuberkulinpräparaten lassen sich bei tuberkulös infizierten Versuchstieren ohne große Schwierigkeiten erzeugen, und zwar am einfachsten durch intravenöse Einspritzung von Tuberkulinpräparaten. In der Regel sind sie schon nach einmaliger Einspritzung im Blutserum nachweisbar, doch läßt sich ihre Menge durch wiederholte Einspritzungen leicht steigern. Die gleiche Wirkung läßt sich auch bei gesunden Kaninchen erzielen, wenn man diese künstlich, z. B. durch Einspritzung toter Tuberkelbazillen tuberkulinempfindlich gemacht hat. Bei einem nicht tuberkulösen Tiere sind daher mehrfache Injektionen notwendig, indem der Organismus zunächst durch die erste Einspritzung im Sinne einer Tuberkulinempfindlichkeit umgestimmt und dadurch befähigt wird, spezifische tuberkulöse Antikörper zu bilden. Eine Ausnahme von dieser Regel scheinen die Untersuchungsergebnisse von Rothe und Bierbaum zu bilden, denen es bei klinisch gesunden Rindern gelang, schon durch einmalige Einspritzung von toten Perlsuchtbazillen reichliche komplementbindende Antikörper im Blutserum dieser Tiere zu erzeugen.

In bezug auf die Fähigkeit, spezifische Antikörper im tuberkulösen Organismus zu erzeugen, besteht ein erheblicher Unterschied zwischen den einzelnen Tuberkulinpräparaten. Beginnen wir mit dem weniger hierzu geeigneten Präparate, so würde sich etwa folgende Reihenfolge hinsichtlich der Fähigkeit, Antikörper zu bilden, erzielen:

1. Alttuberkulin oder ähnliche, aus Kulturflüssigkeit hergestellte Präparate.
2. Präparate, hergestellt aus mechanisch zertrümmerten Tuberkelbazillen, wie die Bazillen-Emulsion.
3. Vollbakterien d. h. Präparate mit mikroskopisch in ihrer Form erhaltenen Tuberkelbazillen.

Bei den gebräuchlichen Versuchstieren (Kaninchen, Ziegen und Rindern) lassen sich komplementbindende Antikörper am einfachsten und schnellsten

durch 2—3 malige intravenöse Einspritzung von abgetöteten Vollbakterien erzielen.

Nachdem durch zahlreiche Tierversuche festgestellt war, daß die intensivste Antikörperbildung durch intravenöse Einspritzung zu erzielen ist, suchten wir auf Veranlassung von Robert Koch auch beim Menschen auf diesem Wege die Entstehung und Vermehrung spezifischer Antikörper im Komplementbindungsversuch zu verfolgen.

Zu diesen Untersuchungen wurden getrocknete menschliche Tuberkelbazillen benutzt, die im Jahre 1903 auf albumosefreiem Nährboden im Institut „Robert Koch" gezüchtet und seit dieser Zeit im Exsikkator über Schwefelsäure, gegen Licht geschützt, aufbewahrt worden waren. Diese Tuberkelbazillen waren also weder durch Chemikalien noch durch Einwirkung von Hitze künstlich abgetötet worden, sondern in möglichst schonender Weise nur durch das Alter und die trockene Aufbewahrung abgestorben. Durch zahlreiche Versuche am Meerschweinchen und Kaninchen war mittels subkutaner und intraperitonealer Einspritzungen vorher festgestellt worden, daß unter diesen Bazillen tatsächlich keine virulenten lebenden Keime mehr enthalten waren. Die zur Einspritzung bestimmten Aufschwemmungen wurden durch feines Verreiben der Bazillen im Achatmörser unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Nachdem später durch vergleichende Untersuchungen an Tieren festgestellt war, daß die Fähigkeit, spezifische Antikörper zu erzeugen, durch die Erhitzung der Tuberkelbazillenaufschwemmungen nicht aufgehoben war, wurden die zur Einspritzung kommenden Lösungen vorher ½ Stunde im Dampftopf sterilisiert. Dieses Vorgehen hatte außerdem den nicht zu unterschätzenden Vorteil, daß jegliche Sicherheit hinsichtlich etwaiger aërober und anaërober Luftkeime gewährleistet war, die in den jahrelang trocken aufbewahrten Tuberkelbazillenkulturen enthalten sein konnten.

Zur Behandlung der Kranken wurde in der Regel als Anfangsdosis 0,00025 mg intravenös in die Armvene eingespritzt. Diese Dosis wurde ausnahmsweise auf die Hälfte ermäßigt, wenn durch einen stark positiven Ausfall der Pirquetreaktion eine erhöhte Empfindlichkeit des Organismus gegenüber Tuberkulinpräparaten festgestellt war. Die Steigerung der Dosen geschah dann langsam in der bei der subkutanen Behandlung üblichen Weise; trat eine Fieber- oder Allgemeinreaktion auf, so wurde die Dosis so lange wiederholt, bis die Reaktionsfähigkeit des Organismus gegenüber dieser Dosis erloschen war. Bei besonders empfindlichen Kranken wurde mit der Dosis entsprechend heruntergegangen; das gleiche geschah, wenn die Einspritzungen längere Zeit unterbrochen waren.

Die meisten der intravenös behandelten Kranken befanden sich im Rudolf Virchow-Krankenhaus; ein kleinerer Teil wurde ambulant behandelt. Unter unseren Patienten befanden sich 91 Männer, 44 Frauen und 5 Kinder in den verschiedensten Stadien der Erkrankung. Bei jeder intravenösen Einspritzung wurden einige ccm Blut entnommen zur Untersuchung des Serums auf den Gehalt an komplementbindenden Antikörpern. Insgesamt verfügen wir bei unseren 154 Patienten über 1362 intravenöse Einspritzungen mit ebenso vielen Untersuchungsreihen mittels der Komplementbindungsmethode.

Die nach der intravenösen Einspritzung auftretenden Fieber- und Allgemeinreaktionen entsprechen denjenigen bei der subkutanen Behandlung, doch treten sie im allgemeinen frühzeitiger auf und klingen schneller ab.



In einigen Fällen trat die Reaktion bereits 1—2 Stunden nach der Einspritzung unter starker Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens mit hohem Fieber, Schüttelfrost und Schwindelgefühl auf, ohne daß auch nur in einem einzigen Falle nachteilige Folgen eingetreten wären.

Unsere Erfahrungen bei der intravenösen Behandlung der Patienten mit abgetöteten Vollbakterien lassen sich dahin zusammenfassen, daß es ebenso wie im Tierversuch auch beim Menschen möglich ist, spezifische Antikörper künstlich im Blutserum zu erzeugen. Die Antikörper treten in der Regel in deutlich nachweisbaren Mengen erst nach der Einspritzung der für den Menschen relativ hohen Dosen von 0,1 mg Bazillensubstanz auf.

Vergleichsweise angestellte Untersuchungen, ob sich durch wiederholte Einspritzungen ganz kleiner Dosen (0,00025—0,0005 mg) der gleiche Antikörpergehalt im Blutserum erzeugen läßt, wie bei der Behandlung mit allmählich von 0,00025 mg bis zur Höchstdosis von 0,05—1 mg ansteigenden Dosen, ergaben eine Ueberlegenheit der letzteren Methode.

Da das Ansteigen des Antikörpergehaltes des Blutserums im allgemeinen entsprechend der Quantität der eingespritzten Bazillen vor sich geht, so wird man vielleicht annehmen können, daß das Auftreten von komplementbindenden Antikörpern zum Teil durch die Resorption von Tuberkulinstoffen bedingt wird.

Außer bei den intravenös behandelten Patienten suchten wir die Frage der Antikörperproduktion auch bei solchen Tuberkulösen zu verfolgen, die subkutan mit verschiedenen Tuberkulinpräparaten behandelt waren. Unsere diesbezüglichen Erfahrungen beziehen sich auf etwa 2400 Untersuchungen mittels der Komplementbindungsmethode bei über 500 Kranken; diese befanden sich teils im Rudolf Virchow-Krankenhause und Moabiter Krankenhause (chir. Abt. Geh. Rat Sonnenburg) Berlin, sowie der Lungenheilstätte Belzig, teils wurden sie ambulant in der Tuberkulinstation Lichtenberg (Prof. Kayserling) oder in den Ambulatorien für Lungenkranke des Kreises Liebenwerda (Kreisarzt Dr. Beninde) oder im Institut „Robert Koch“ behandelt.

Bei den vor Beginn der spezifischen Behandlung vorgenommenen Untersuchungen des Blutes zeigte sich, daß in etwa 6—8% der Fälle bereits eine spontane Antikörperbildung eingetreten war; bei etwa der Hälfte dieser Kranken fanden sich relativ wenig Antikörper, in den übrigen Fällen dagegen reichliche, und zwar öfters, aber keineswegs regelmäßig, bei vorgeschrittenem Krankheitsstadium. Eine Erklärung für die spontane Antikörperbildung läßt sich nur vermutungsweise geben; in der kranken Lunge können sich ohne Kommunikation mit der Außenwelt Erweichungsherde gebildet haben, in denen Tuberkelbazillen in großer Anzahl wuchern, deren Stoffwechselprodukte vielleicht auf dem Blutwege zur Resorption gelangen. Aehnliche Verhältnisse mögen auch bei einem von uns behandelten Kranken mit reichlichen spontanen Antikörpern vorgelegen haben, dessen tuberkulöse Halsdrüsen nicht mit der Außenwelt kommunizierten.

Als Regel ist es jedenfalls anzusehen, daß Tuberkulöse, bei denen eine spezifische Behandlung nicht vorgenommen ist, keine komplementbindenden Antikörper im Blute enthalten; irgendein diagnostischer Schluß in bezug auf das Vorhandensein oder Fehlen einer tuberkulösen Infektion läßt sich somit aus dem Fehlen der Antikörper nicht ziehen, ebensowenig wie ein prognostischer Schluß.

Finden sich komplementbindende Antikörper in einem Blutserum, so



können wir ebenso wie bei einem positivem Ausfall der anderen serologischen Tuberkulinreaktionen daraus nur den Schluß ziehen, daß einmal eine Berührung des Körpers mit Tuberkulose stattgefunden hat, welche in der spezifischen Umstimmung der Körpersäfte ihren Ausdruck findet.

Daß bei einem vollkommen tuberkulosefreien Menschen spezifische Antikörper auftreten, wird man im allgemeinen verneinen müssen. Eine Ausnahme bilden nach den bisherigen Untersuchungen nur die Leprösen. Bei der Untersuchung der Blutseren von 35 Leprakranken, welche Robert Koch auf seinen Wunsch aus verschiedenen Weltteilen zugesandt wurden, fanden wir die von anderen Autoren gemachte Angabe bestätigt, daß bei der tuberösen Lepra im Gegensatz zur anästhetischen Form natürlich entstandene Antikörper gegenüber Tuberkulinpräparaten auftreten. Eine Erklärung für diese immerhin auffallende Erscheinung läßt sich vielleicht in der nahen Verwandtschaft des Erregers der Lepra mit dem Tuberkelbazillus finden.

Bei der spezifischen Behandlung unserer Patienten mit verschiedenen Tuberkulinpräparaten zeigte sich hinsichtlich der Entstehung spezifischer Antikörper das gleiche Verhalten wie bei den Tierversuchen. Auch hier traten bei der Behandlung mit Präparaten, die aus der Kulturflüssigkeit der Tuberkelbazillen hergestellt waren, die Antikörper in viel geringerem Grade und später auf, als bei der Verwendung von Präparaten aus den Bazillenleibern z. B. der Bazillenemulsion. In beiden Fällen waren bei subkutaner Anwendungsweise relativ hohe Dosen erforderlich, die sich der Maximaldosis näherten, wenn man einigermaßen deutliche Antikörper erzielen wollte. Hierbei zeigte es sich, daß entsprechend dem Verhalten bei der Pirquetreaktion die Antikörper in erster Linie gegenüber dem zur Behandlung verwendeten Tuberkulinpräparat gebildet werden, so daß man bisweilen aus dem Komplementbindungsbefunde feststellen konnte, mit welcher Gruppe von Tuberkulinpräparaten die Behandlung erfolgt war. Wir fanden z. B. bei einem mit albumosefreiem Tuberkulin bis 1000 mg behandelten Patienten deutliche Antikörper gegenüber diesem Präparat, während gegen Alttuberkulin und Bazillenemulsion eine nennenswerte Antikörperbildung nicht stattgefunden hatte.

Daß die Quantität der beim spezifisch behandelten Menschen nachweisbaren Antikörper eine erheblich geringere ist, als wir sie bei unseren Versuchstieren mit Leichtigkeit durch intravenöse Einspritzung erzielen können, erklärt sich ohne weiteres aus der erheblich geringeren Menge der beim Menschen zur Anwendung kommenden Dosen. Selbstverständlich muß man bei der Beurteilung der Antikörperbildung vorsichtig sein, da eventuell unverändertes Antigen im Organismus zirkulieren könnte, welches beim Komplementbindungsversuch einen spezifischen Ambozeptor vortäuscht; auch muß auf eine etwaige Eigenhemmung der zur Untersuchung kommenden Sera geachtet werden.

Am praktisch wichtigsten erscheint bei unseren Untersuchungen natürlich die Beantwortung der Frage, ob die künstlich durch die Behandlung erzeugten spezifischen Antikörper tatsächlich einen Gewinn für den tuberkulösen Organismus bedeuten und gewissermaßen als Schutzkörper aufzufassen sind.

Diese Frage können wir nach unseren Erfahrungen nicht unbedingt bejahen. Wohl sahen wir bei einzelnen Patienten mit zunehmender Antikörperbildung im Laufe der Behandlung deutliche klinische Besserung



unter gleichzeitigem Verschwinden der Tuberkelbazillen auftreten, so daß es nahe lag, in der Antikörperbildung einen Indikator für die fortschreitende Heilung des Organismus zu erblicken. Gegen diese Auffassung scheint die Beobachtung zu sprechen, daß bisweilen, aber keineswegs immer, bei fortschreitender, zum Tode führender Krankheit auch ohne spezifische Behandlung sich reichliche Antikörper im Blute nachweisen lassen. Hier könnte man annehmen, daß die Antikörperbildung nicht in ausreichendem Maße oder erst zu spät einsetzte zu einer Zeit, als bei dem vorhandenen Grade der anatomischen Veränderungen des tuberkulös erkrankten Lungengewebes eine Ausheilung nicht mehr möglich war.

Jedenfalls können wir aus dem Auftreten komplementbindender Antikörper nicht ohne weiteres auf ein Heilbestreben des Organismus schließen; treten indes bei einem Patienten in gutem Allgemeinzustand im Laufe der spezifischen Behandlung komplementbindende Antikörper im Blutserum auf, so können diese insofern in prognostisch günstigem Sinne gedeutet werden, als sie eine erwünschte spezifische Umstimmung des Organismus im Sinne einer Immunität anzeigen. In diesen Fällen würden also die Antikörper, wenn auch nicht unmittelbar die „Schutzkörper", so doch einen Indikator darstellen für die unter dem Einflusse der Therapie eingetretene spezifische Veränderung der Körperzellen.

Da die Entstehung komplementbindender Antikörper sich beim Menschen in reichlicherem Maße durch intravenöse als durch subkutane Einspritzung von Tuberkulinpräparaten erzielen läßt, so erscheint die Frage berechtigt, ob eine Modifikation der spezifischen Therapie in der Hinsicht erwünscht erscheint, daß anstatt der subkutanen Applikation die intravenöse Verabreichung zur Anwendung gelangt. Diese Frage können wir indes nach dem Ausfall unserer Untersuchungen nicht ohne weiteres bejahen. Derselbe klinische Erfolg wie bei der intravenösen Behandlung läßt sich, vorausgesetzt, daß diese Behandlung lange genug durchgeführt wird, auch durch subkutane Einspritzungen erreichen. Bei beiden Behandlungsformen kann ein Teil der Patienten als geheilt entlassen werden, andere zeigen erhebliche Besserung und negativen Tuberkelbazillenbefund im Verlauf der Behandlung, während bei zu vorgeschrittener Erkrankung der Erfolg ausbleibt. Ein erheblicher Nachteil der intravenösen Behandlung liegt, abgesehen von der größeren Unbequemlichkeit für Arzt und Patienten darin, daß die Intensität der Tuberkulinreaktionen hier in der Regel erheblich stärker ist als bei der subkutanen Einspritzung; denn naturgemäß ist die Giftwirkung des unmittelbar in die Blutbahn gelangenden Tuberkulins eine größere als bei der langsamen Resorption durch das Unterhautzellgewebe. Die intravenöse Behandlung verstößt somit gegen das jetzt im Gegensatz zur ersten Tuberkulinära als richtig anerkannte Prinzip der möglichsten Vermeidung von starken Fieber- und Allgemeinreaktionen bei der Tuberkulinbehandlung. Allein aus diesem Grunde dürfte die intravenöse Anwendungsform stets mit dem Widerstand von seiten der Tuberkulintherapeuten zu rechnen haben, da der dadurch erzielte etwas höhere Antikörpergehalt des Blutes nicht als ein ausreichendes Aequivalent in therapeutischer Hinsicht angesehen werden kann.

Immerhin können Fälle vorkommen, in denen eine intravenöse Tuberkulinanwendung gerechtfertigt erscheint, wenn es darauf ankommt, einen möglichst intensiven therapeutischen Effekt zu erzielen. Voraussetzung zu der, große Anforderungen an die Widerstandskraft des Organismus stellen-



den, intravenösen Behandlungsform ist ein guter Allgemeinzustand und ein nicht sehr weit vorgeschrittener Lungenprozeß.

Schlußsätze.

1. Ebenso wie beim tuberkulinempfindlichen Tiere lassen sich auch beim tuberkulösen Menschen durch die Behandlung mit großen Dosen von Tuberkulinpräparaten komplementbindende Antikörper im Blutserum erzeugen.

2. Bei der Einspritzung von Präparaten, die aus den Tuberkelbazillenleibern gewonnen sind, tritt die Antikörperbildung in stärkerem Grade ein, als bei der Behandlung mit Tuberkulinen, die aus der Kulturflüssigkeit hergestellt werden.

3. Die intensivste Antikörperbildung läßt sich beim tuberkulösen Menschen durch intravenöse Einspritzung von toten, sonst aber unveränderten Tuberkelbazillen erzielen.

4. Prognostisch oder diagnostisch lassen sich die komplementbindenden Antikörper bei der menschlichen Tuberkulose praktisch zurzeit noch nicht verwerten. Das Auftreten von komplementbindenden Tuberkulose-Antikörpern besagt nur, daß eine Berührung des Organismus mit Tuberkulose stattgefunden hat.

5. Die Frage inwieweit diese spezifische Umstimmung den Heilungsprozeß günstig beeinflußt, läßt sich noch nicht mit Sicherheit entscheiden.

Diskussion:

Römer (Marburg): Zu den Vorträgen der Herren Titze und Kraus möchte ich mir einige Bemerkungen erlauben. Zunächst kann ich mich nicht mit der Behauptung des Herrn Titze einverstanden erklären, daß die Tuberkulose des Meerschweinchens stets ein unheilbarer Prozeß sein soll. Ich habe in Brauers Beiträge Einzelprotokolle veröffentlicht, die durchaus für eine Ausheilbarkeit der Meerschweinchentuberkulose sprechen. Wenn z. B. — ich verweise auf die genannte Arbeit — ein Meerschwein subkutan mit Tuberkelbazillen infiziert wird und bei der 2 Jahre später ausgeführten Sektion weiter nichts von Tuberkulose aufweist als ein verkalktes Knötchen in der dem Infektionsort benachbarten Drüse, so muß man hier von einer Heilbarkeit der Tuberkulose sprechen, genau so, wie man von einer Heilung der Tuberkulose beim Menschen und beim Rinde spricht.

Zustimmen möchte ich Herrn Titze, wenn er von der außerordentlichen Seltenheit der spontanen Meerschweinchentuberkulose spricht. Der von ihm gegebenen Erklärung kann ich mich aber nicht rückhaltlos anschließen. Ich glaube, daß es auch hier heißt: „Gelegenheit ist alles". Wenn man bei Meerschweinchen eine wirklich offene Tuberkulose erzeugt, z. B. ein großes eiterndes Geschwür an der Körperoberfläche, dann diese Tiere mit gesunden Meeerschweinen in einen engen Käfig zusammensetzt, so erfolgt die Uebertragung der Tuberkuloseinfektion auf die gesunden Tiere mit großer Regelmäßigkeit. Sodann kurz folgendes kürzlich von mir registrierte Erlebnis: In mehreren Sendungen von Meerschweinen aus einer schlesischen Zuchtanstalt fanden sich bis zu 25% spontan tuberkulös erkrankter Tiere; ich konnte feststellen, daß die Infektion, welche pathologisch-anatomisch hauptsächlich als Halsdrüsentuberkulose, kombiniert mit Bronchialdrüsen- und Milztuberkulose imponierte, höchstwahrscheinlich von einer tuberkulösen hustenden Ziege ausging; die betreffenden Tuberkelbazillen gehören nach dem Ergebnis der noch nicht völlig abgeschlossenen Untersuchungen wahrscheinlich dem sog. Typus bovinus an.

Den Leitsatz des Herrn Titze, es lägen bisher keine Anhaltspunkte dafür vor, daß sich der Organismus mittels Antikörper der Tuberkuloseinfektion erwehrt, kann ich ebenfalls nicht ohne weiteres akzeptieren. Abgesehen von den Angaben sehr kompetenter Autoren, die auf experimentellem Wege für die Bedeutung antiinfektiöser Antikörper Beweismaterial erbracht haben, demonstriere ich (an der Hand von Kurven) folgendes Experiment: 4 Schafe werden dem gleiche Tage (16. VII. 1910) mit der gleichen Dosis der gleichen Rindertuberkelbazillen intravenös infiziert. 2 unter ihnen — die Kontrolltiere — erkranken nach



einem fieberfreien Inkubationsstadium von 8 Tagen an Fieber und unter zunehmenden Krankheitserscheinungen erfolgt nach 37 bzw. 42 Tagen der Tod an schwerster akuter disseminierter Lungentuberkulose. Die beiden anderen Tiere, denen 48 Stunden vor der Infektion je 10 ccm Serum eines tuberkuloseimmunen Schafes intravenös injiziert worden waren, antworten im Gegensatz zu den Kontrollen mit sofortiger heftiger Reaktion (also genau so wie aktiv immune Tiere), dann klingt das Fieber ab und unter weiterer Serumbehandlung folgt allmählich eintretendes Wohlbefinden. Das eine der Tiere — getötet 10 Monate nach der Infektion — hatte nur wenige bindegewebig abgekapselte Lungenherde, das andere — getötet erst nach 1½ Jahren — erwies sich vollkommen tuberkulosefrei. Daß in diesem Versuch allein das Immunserum die Immunität bedingt hat, ist wohl ziemlich sicher; spontane Tuberkulose, an die man denken könnte, ist ja bei Schafen selten und unsere Versuchstiere erwiesen sich vor der Infektion tuberkulinunempfindlich. Soweit also dieser eine Versuch — weitere waren mir bisher nicht möglich — Schlüsse zuläßt, spricht er entschieden für die Bedeutung serumgelöster Antikörper als Ursache der Tuberkulose-Immunität.

Zweifelhaft ist es mir aber wieder — und damit komme ich auf die Mitteilung des Herrn Kraus —, ob der nähere Immunitätsmechanismus bei Tuberkulose wirklich einem lytischen Vorgang entspricht. Skeptisch stimmen mich dabei von mir verwirklichte Experimente, die zeigten, daß bei Meerschweinen, intraperitoneal injiziert mit einer Mischung von starkem Immunserum und der tuberkuloseerzeugenden Minimaldosis, die Tuberkuloseinfektion nicht verhindert wird, ja genau so verläuft, wie bei den Kontrolltieren. Selbst wenn unter dem Einfluß des Immunserums sich lytische Vorgänge im Peritoneum abspielen, scheint es mir sehr zweifelhaft, ob diese Lyse der Tuberkelbazillen so weit geht, daß wie beim Pfeifferschen Versuch kein lebens- und vermehrungsfähiger Rest des Tuberkelbazillus erhalten bleibt.

Ich resümiere also auf Grund meiner Erfahrungen dahin, daß Antikörper die Ursache der Tuberkulose-Immunität sind, zum mindesten sie mitbedingen, daß aber der nähere Immunitätsmechanismus bei der Tuberkulose nach wie vor ungeklärt ist.

Weber (Gr. Lichterfelde): Herr Titze hat sich dahin geäußert, das Rind sei das geeignetste Versuchstier, um eine Beeinflussung der Tuberkulose durch spezifische Therapie zu studieren. Dieser Anschauung kann ich mich nicht, oder doch nur mit einer ganz bestimmten Einschränkung anschließen. Die Rindertuberkulose ist bei uns in Deutschland so verbreitet, daß die meisten Bestände seit vielen Generationen durchseucht sind, die Tiere stehen täglich unter der Einwirkung von Tuberkelbazillen. Derartige Rinder kann ich für die in Frage kommenden Versuche nicht als geeignet bezeichnen, feinere Ausschläge hinsichtlich der Einwirkung spezifischer Mittel können bei solchen Rindern jedenfalls nicht erwartet werden, die Rinder müßten aus Gegenden stammen, die frei von Tuberkulose sind.

Sehr interessiert hat mich die Mitteilung von Herrn Kraus. Ich möchte mir die Anfrage erlauben, ob sich Unterschiede zwischen bovinen und humanen Bazillen gezeigt haben.

E. Jacobsthal (Hamburg): Dafür, daß nicht nur Meerschweinchen eine verschiedene Resistenz gegen Bazillen haben können, sondern daß auch der Tuberkulosebazillus sich dem Meerschweinchenorganismus anpassen kann, hatte ich neulich einen interessanten Beweis. Bei einem tuberkulösen Individuum (R.) hatten sich ganz eigenartige tief in die Rückenmuskulatur und in die Wirbelsäule eindringende, makroskopisch fast sarkomartig anzusehende, nirgends verkäste Granulationsmassen gebildet. Ein damit subkutan infiziertes Tier zeigte nach sechs Wochen eine minimale Schwellung einer Leistendrüse, sonst absolut nichts von Tuberkulose. Ein mit der grauen, leicht vergrößerten Drüse subkutan geimpftes Meerschweinchen bekam eine vergrößerte und verkäste Leistendrüse, sonst keine generalisierte Tuberkulose (nur ganz vereinzelte Tuberkeln in Milz, Leber, Lunge); die mit dieser Drüse geimpften Tiere erkrankten alle an allgemeiner Tuberkulose. Der Typus des Stammes soll noch bestimmt werden.

Die von Herrn Kraus erwähnten, das Methylenblau annehmenden Körnchen des Tuberkelbazillus sind mir schon seit Jahren bekannt, sie lassen sich durch längere Gegenfärbung des Ziehlpräparates mit basischen Farbstoffen, insbesondere Löfflerblau gut darstellen. Anfallenderweise finden sie sich in manchen Eitern aus Drüsen und bei Samenblasentuberkulose in besonders großer Zahl.

Die Reaktion des bereits tuberkulosen Meerschweinchens und Kaninchens auf eine kutane Reinfektion hat, wie ich hier wohl mitteilen darf, in unserem Krankenhause Herr Lewandowsky studiert. Histologisch findet man hier beim tuberkulosen Tier wenige



Stunden nach der Reinfektion eine starke, später wieder weichende Leukocytenansammlung; beim kutan infizierten Normaltier fehlt diese fast ganz.

Schließlich möchte ich hier einen Versuch mitteilen, den ich trotz seiner großen Wichtigkeit für die Erklärung des Mechanismus der Tuberkulinreaktion bisher deswegen nicht veröffentlicht habe, weil mir seine Wiederholung bisher nicht gelungen ist und weil eine Kontrolle fehlte, die man heutzutage nicht mehr für unnötig halten darf.

Ich digerierte Alttuberkulin einerseits mit Normalmeerschweinchenserum, andererseits mit dem Sammelserum aus tuberkulösen Meerschweinchen (8 Std. bei 37°). Es wurde zehnmal so viel Serum wie Tuberkulin dazu genommen, und von dem Gemisch Normalmeerschweinchen intravenös soviel eingespritzt, als einer Menge von 0,42 ccm Tuberkulin entsprach. Die Tiere, die das in Normalserum digerierte Tuberkulin erhalten hatten, blieben gesund, ebenso die Kontrolle mit Tuberkulin allein. Das Tier, das mit Tuberkuloseserum digeriertes Alttuberkulin erhalten hatte, starb nach wenigen Minuten anaphylaktisch. Bei dem Versuch fehlt leider die Kontrolle, daß das Gemisch aus tuberkulösem Meerschweinchenserum allein unschädlich ist. Weil bei diesem Versuche ein zuviel oder zuwenig jedes einzelnen Faktors (Zeit, Meerschweinchenserum, Tuberkulin) einen positiven Ausfall zunichte machen kann, ist es äußerst schwer die günstigsten Versuchsbedingungen zu finden. Aber meines Erachtens würde ein einziger einwandfrei positiver Versuch für die Erklärung der Tuberkulinwirkung von prinzipieller Bedeutung sein und die Wolff-Eisnerschen und Sahlischen Anschauungen darüber stützen. Nur deswegen wage ich hier diesen Versuch unter aller Reserve vorzutragen.

Eisenberg (Krakau): Die von Herrn Kraus beobachteten Auflösungserscheinungen wären wohl am besten vorderhand von den im Pfeifferschen Phänomen zum Ausdruck gelangenden zu trennen. Während bei jenen der eigentlichen Auflösung (durch Quellungsvorgänge?) Plasmolyse vorangeht, handelt es ich hier wohl eher um lipolytische Vorgänge, auf die bereits Bergel hingewiesen hat. Die in den aufgestellten Präparaten sichtbaren blauvioletten Körnchen sind höchstwahrscheinlich metachromatische Ernst Babessche (Volutin-) Körnchen. Nach noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von E. zeichnen sich dieselben färberisch durch relative Cyanophilie aus d. h. sie bevorzugen in Gemischen dunkle, großmolekulare Farbstoffe und halten dieselben gegenüber Entfärbungsmitteln hartnäckiger fest, als der restliche Zelleib. So kann man bei Tuberkelbazillen durch längere Nachfärbung mit Mansonblau die mittels Karbolfuchsin bereits gefärbten Granula blauviolett darstellen (s. Eisenberg Cbl. f. Bakter. I Abt. Or. LIII 552). Durch Herabsetzung der Säurefestigkeit wird die Darstellung der Granula erleichtert, indem sie weniger von der Ziehl-gefärbten Hülle überdeckt werden. Bezüglich der Auflösung wäre vielleicht noch an ungefärbten Präparaten zu kontrollieren, ob die Bakterien tatsächlich bis auf die Granula aufgelöst werden oder ob an diesen doch noch unfärbbar gewordene Stäbchenreste hängen. In diesem Falle könnten sie vielleicht durch eine der verstärkten Färbungsmethoden (nach Hermann oder Eisenberg Berl. klin. Woch. 1910 No. 8) doch noch sichtbar gemacht werden.

Petruschky (Danzig): Ich verstehe nicht ganz, warum Herr Weber die deutschen Rinder für ungeeignet zu Heilungsversuchen hält. Daß die Tuberkulose häufig unter ihnen vorkommt, sollte doch gerade ein Ansporn sein, sie möglichst zu tilgen. Gelingt es, auf dem Wege der Heilung tuberkulose-immune Tiere zu gewinnen, so würde das schon rein wissenschaftlich ein großer Erfolg sein. Man könnte dann auch die Frage der Vererbung dieser erworbenen Immunität studieren. Noch leichter ließen sich diese Versuche vielleicht an Schweinen anstellen, deren Tuberkulose in ihrem Verlauf mit der des Menschen die größte Aehnlichkeit zu haben scheint. Wenn es gelingt, Drüsentuberkulose bei Ferkeln durch spezifische Therapie zu heilen, so wird sich feststellen lassen, ob diese Tiere immun gegen erneute Tuberkulose-Infektion geworden sind. Bei den von Drüsentuberkulose geheilten Kindern habe ich eine erneute Spontan-Infektion bisher niemals beobachtet. Wir würden wissenschaftlich und praktisch einen großen Schritt weiter kommen, wenn an einer geeigneten Tierart diese wichtige Frage der „Heilungsimmunität“ experimentell studiert würde.

Weber (Groß-Lichterfelde): Ich teile die Anschauung von Herrn Prof. Roemer, daß im Krankheitsbild der menschlichen Lungenphthise ein gewisser Grad von Immunität oder Widerstandskraft gegen Tuberkuloseinfektion zu erblicken ist, in eigenen experimentellen Versuchen habe ich wenigstens Stützpunkte für diese Anschauung gewonnen. Ich bin nun der Ansicht, daß in dem Krankheitsbild der Tuberkulose, wie wir es bei unseren Rindern



in Deutschland und den meisten Kulturländern beobachten, ein gewisser Grad von Resistenz bzw. Immunität zum Ausdruck kommt, der sich durch die allmähliche Durchseuchung von selbst ausgebildet hat.

Dies ist auch der Grund, warum ich mich den Aussichten der künstlichen Rinderimmunisierung gegenüber so skeptisch verhalte. Ich bin der Ansicht, daß unsere Rinder sich den Grad von Immunität, der ihnen unter praktischen Verhältnissen überhaupt beigebracht werden kann, durch die Durchseuchung ganz von selbst erworben haben.

Derartige Tiere halte ich für das Studium der Beeinflussung der Tuberkulose durch spezifische Therapie für wenig geeignet.

Neufeld (Berlin): Heilversuche mit Tuberkulin an Rindern könnten gewiß wertvolle Aufschlüsse geben; es ist aber wohl selbstverständlich, daß man bei dem oft an sich gutartigen Verlauf der Rindertuberkulose in der Deutung der Heilerfolge sehr vorsichtig sein muß.

Bezüglich der Mitwirkung von Antikörpern bei der natürlichen und erworbenen Tuberkuloseimmunität möchte ich Herrn Titze nicht beistimmen. Man darf wohl nur sagen, daß die uns bisher bekannten Antikörper (das gilt speziell für die phagocytären Antistoffe nach Ungermanns Versuchen) dabei nicht nachweisbar beteiligt sind, und weiterhin, wie ich kürzlich auf der Tuberkulosekonferenz in Rom näher ausgeführt habe, daß die Heilwirkung des Tuberkulins nicht notwendig mit Antikörperbildung in Zusammenhang grebacht werden muß. Deshalb können aber doch Antikörper in einer uns bisher nicht bekannten Weise bei der Immunität mitwirken und ich möchte insbesondere für die erworbene Immunität gegen Tuberkulose sogar mit Sicherheit annehmen, daß sie auf einer echten Antikörperwirkung beruht.

Bezüglich der von Herrn Titze ebenso wie schon von anderen Autoren behaupteten Virulenzabschwächung der Tuberkelbazillen durch Lymphdrüsengewebe richte ich an den Vortragenden die Frage, ob er eine solche wirklich nachgewiesen, d. h. lebende avirulente Tuberkelbazillen aus dem betreffenden Material gezüchtet hat.

Eine spezifische Reaktion im Meerschweinchenperitoneum habe ich mit Tuberkelbazillen bei Versuchen, die ich im Gesundheitsamt mit Herrn Dr. Lindemann anstellte, nicht beaobchten können. Weder fand ich bei Reinjektion schon tuberkulöser Tiere eine extrazelluläre Auflösung, noch bei Injektion von Bazillen zusammen mit hochwertigem (Höchster) Serum die von Ruppel und Rickmann beschriebene Beschleunigung und Verstärkung der Phagocytose; auch die gefressenen Bazillen zerfielen nicht schneller als sonst. Aehnliche Versuche mit hochwertigem (durch Agglutination und Präzipitation geprüftem) Tuberkuloseserum (Esel- und Ziegensera) habe ich übrigens auf R. Kochs Veranlassung schon 1902 angestellt, ebenfalls ohne deutliches Ergebnis.

W. Rosenthal (Göttingen): Ich möchte eine gelegentliche Beobachtung anführen, die mir geeignet scheint, die von Herrn Eisenberg gegebene Deutung der Krausschen Präparate zu stützen. Bei der Untersuchung einer älteren Tuberkelbazillenreinkultur fand ich einmal Bilder, die Hantelformen mit roten Kugeln und blauen Stäbchen bei der üblichen Färbung darstellten. Bei dieser Kultur gelang es dann auch mit geringer Modifikation der Doppelfärbung nach Neißer Bilder zu erhalten, die Diphtheriepräparaten täuschend ähnlich sahen. Später bei anderen Kulturen ist das nie wieder so gut gelungen.

Römer (Marburg): Im Gegensatz zu Herrn Petruschky und in Zustimmung zu den Ausführungen des Herrn Weber halte ich die Verwendung von Rindern für kurative Tuberkuloseversuche ebenfalls nicht für einfach wegen der starken Verbreitung der Rindertuberkulose. Auch die Tuberkulinprobe bietet nicht immer absolute Sicherheit, tuberkulosefreie Tiere im Versuch zu haben. Dierkt warnen möchte ich aber davor, an spontan tuberkuloseerkrankten Rindern Heilversuche anzustellen; wir kommen dann leicht als Experimentatoren in ein bedenkliches Fahrwasser und würden zweifellos über kurz oder lang die endlosen und fruchtlosen Tuberkulindebatten haben, mit denen unsere medizinischen Kongresse so überlastet sind. Als experimentelle Biologen dürfen wir auf klare eindeutige Versuchsbedingungen, d. h. auf Kontrolltiere, genau dosierte Infektionen usw., nicht verzichten.

Herr Petruschky hat, wenn auch nur in Paranthese, es getadelt, daß ich nach wie vor von Tuberkulose-Immunität spreche. Ich habe bereits früher meine Gründe auseinandergesetzt, warum ich diese Bezeichnung nicht nur für berechtigt, sondern für allein berechtigt halte. Wenn es sich nun weiter bestätigt, daß Antikörper die Ursache des Tuberkuloseschutzes sind, dann müssen wir unbedingt nach der heutigen Nomenklatur



von Immunität sprechen; wenn wir das Serum eines anaphylaktischen Meerschweins auf ein normales Meerschwein übertragen und bei diesem durch Injektion des entsprechenden Eiweißes den anaphylaktischen Tod auslösen, so nennen wir das, weil es eine auf Antikörper beruhende Erscheinung ist, ein Immunitätsphänomen. Es entspricht das einer durchaus logisch erfolgten Weiterentwicklung des Begriffes Immunität. Sollen wir da dem ebenfalls auf Antikörper zurückzuführenden beträchtlichen Tuberkuloseschutz wirklich die Bezeichnung Immunität vorenthalten?

Wenn vorhin Herr Kraus meinen Diskussionsbemerkungen entgegenhielt, daß eben nicht alle Tuberkelbazillenstämme lytischen Vorgängen zugänglich sind, so liegt darin eigentlich schon der Beweis, daß die Auflösungserscheinungen nicht die Ursache der Tuberkuloseimmunität sein können; denn die Immunität gilt gegenüber allen Stämmen, wenigstens habe ich davon bisher keine Ausnahme gesehen und es wäre doch merkwürdig, wenn unsere Institutsstämme zufälligerweise alle solche wären, die der Lyse zugängig sind.

Petruschky (Danzig): Gegenüber Herrn Römer möchte ich die Bezeichnung „Immunität" bei denjenigen Tieren beanstanden, welche durch Infektion mit lebenden Tuberkelbazillen „immun" geworden sind. Die „immunen" Meerschweinchen Römers sind „Morituri"! Wenn sie eine nachweisliche Resistenz gegen erneute Infektion mit geringen Dosen besitzen, so ist das eine „Durchseuchungs-Resistenz", ähnlich der bei der Syphilis beobachteten. Der alte Ausdruck „Immunität", der zunächst für den Zustand nach Ueberstehen bestimmter Infektionskrankheiten, wie Pocken, Pest, Scharlach, geprägt wurde, kann hierauf keine Anwendung finden. Wir müssen die sprachliche Ausdrucksform benützen, um sachliche Verwirrung und trügerische Hoffnungen zu vermeiden. Von „Immunitäts-Phänomenen" können wir wohl sprechen, von „Immunität" aber nicht. Vielleicht erweisen sich die auf dem Wege der spezifischen Therapie geheilten Menschen und Tiere als Tuberkuloseimmun. Beim Menschen kann man das ja nicht experimentell feststellen, wohl aber am Tier, und schon deshalb begrüße ich die Wiederaufnahme der Heilungsversuche bei Rindern mit großer Freude.

Daß Herr Titze das Auftreten von „Antikörpern" bei der spezifischen Therapie ganz bestreitet, hat mich befremdet. Es sind doch opsonische, lytische und agglutinirende Stoffe einwandfrei nachgewiesen, wenn ich auch, in Uebereinstimmung mit Neufeld, die nachweisbare Menge dieser Körper nicht als Maßstab des „Immunitätsgrades" ansehen kann. Die spezifische Therapie wirkt überhaupt meines Erachtens nicht durch Erzeugung einer „Immunität", sondern 1. durch eine mäßige Steigerung der natürlichen Wehrstoffe („Defensine" im allgemeinen) und 2. durch Heranführung der im Blute vorhandenen Wehrstoffe an den locus affectionis auf dem Wege der Hyperämie. Das geschieht nach jeder Tuberkulindosis. Durch die Hyperämie werden dann neue Antigene aus dem Krankheitsherde herausgeholt und es tritt spontan eine weitere Reaktionswelle auf, die wiederum zur Steigerung der Wehrstoffe beiträgt und erneute Hyperämie bedingt. So findet bei jeder Antigen-Anwendung ein ganz allmählich abebbendes Wellenspiel von Reaktionen statt, für dessen Verlauf dem Körper Zeit gewährt werden muß, ehe man mit einem neuen Anstoß von außen an ihn herantritt.

Römer (Marburg): Ich muß eine Angabe des Herrn Petruschky faktisch berichtigen. Er hat die von mir als tuberkuloseimmun bezeichneten Tiere „morituri" genannt. Dabei liegt tatsächlich die Sache so, daß meine tuberkuloseimmunen Schafe durch eine subkutane Infektion mit einer kleinen Dosis Tuberkelbazillen einen lokalen und lokal bleibenden, allmählich sich abkapselnden und verkalkenden Tuberkuloseherd davon tragen, der ihre Gesundheit nicht im geringsten alteriert, ihnen aber gleichzeitig einen als nahezu absolut zu bezeichnenden Tuberkuloseschutz verleiht. Diese Versuchstiere sind also nicht mehr „morituri" als wir alle in diesem Saale hier morituri sind.

Weleminsky (Prag) führt aus, daß er auch das spontan an Tuberkulose erkrankte Rind in gewissem Sinne für ein geeignetes Versuchstier zur Prüfung einer spezifischen Therapie halte; allerdings muß man berücksichtigen, daß Tiere, welche nur positiv auf Tuberkulin reagieren, ohne sonstige Symptome zu zeigen, häufig dauernd symptomlos, sozusagen latent tuberkulös, bleiben, und daß auch Kühe, welche bereits husten, abmagern usw. wenigstens zum Teil geheilt oder gebessert würden, wenn sie aus dem Stalle heraus und ins Freie gebracht würden. Im Stalle dagegen heilt bei einer Milchkuh manifeste Tuberkulose nicht ohne weiteres und man kann daher Heilungen solcher Tiere, wenn sie wirklich konstant sind, wohl verwerten. Weleminsky hat ebenfalls seit 2 Jahren solche Versuche mit einem eigenen, demnächst publizierten, spezifischen Präparat gemacht,



welche durchaus ermutigend ausfielen. Daß Meerschweinchen für Tuberkulose bei weitem empfänglicher sind, ist ja zweifellos, und ebenso, daß Heilung tuberkulöser Meerschweine absolute Beweiskraft besäße, wenngleich sich auch bei diesen Tieren öfters individuelle Verschiedenheiten besonders bei Infektion mit schwach virulenten Bazillen zeigen; so sah Weleminsky einmal, daß aus einer ungarischen Puszta bezogene, im Freien aufgewachsene Meerschweinchen durchschnittlich bedeutend länger lebten, als die gewöhnlichen gleichzeitig infizierten Meerschweinchen. Aber es ist doch zu bedenken, daß das Meerschweinchen an und für sich ein sehr ungünstiges Objekt für aktive Immunisierung ist. Behring hat recht, wenn er sagt, wir hätten noch heute keine Immunisierungsmethode gegen Anthrax, wenn Pasteur nur Meerschweinchen zur Verfügung gehabt hätte, und ebenso können wir ja Meerschweinchen nicht mit einem Diphtherietoxin immunisieren, was bei anderen, speziell größeren Tieren ebenso gelingt, wie die aktive Immunisierung gegen Anthrax. Deswegen beweist Fehlschlagen der Immunisierung von Meerschweinchen nichts gegen ein spezifisches antituberkulöses Präparat, welches beim spontan erkrankten Menschen oder Rind vollkommen wirksam sein kann; allerdings muß man entsprechende Wirksamkeit auch beim experimentell infizierten Kaninchen oder Rind verlangen.

VIII. F. Ditthorn und E. Neumark (Berlin):

Ueber Coliparagglutination.

Aus einem wegen Typhusverdachtes dem Berliner städtischen Untersuchungsamt zugesandten Stuhl isolierten wir einen Colistamm, den wir im folgenden unter der Bezeichnung C. 15 kurz beschreiben wollen:

Das am ersten Tage auf der Drigalski-Conradi-Platte blaue Wachstum der Kolonien dieses Stammes und der positive Ausfall der Probeagglutination mit Typhusserum veranlaßten uns, ihn näher zu prüfen. Es zeigte sich, daß nach 48 Stunden die ursprünglich blauen Kolonien auf der Drigalski-Conradi-Platte vollständig rot geworden waren. Auch sonst war die Kultur morphologisch und kulturell von Coli nicht zu unterscheiden. Der Stamm wurde durch Typhusserum vom Titer 1:10000 bis 1:2000, mit Paratyphus B-Serum mit dem Titer 1:3000 bis 1:1000 agglutiniert, mit Paratyphus A- und Gärtnerserum trat auch in den stärkeren Serumkonzentrationen keine Agglutination ein. Eine Wiederholung der Prüfung unseres Stammes auf sein agglutinatorisches Verhalten nach 8 und 12 Monaten sowie nach 3 Jahren ergab, daß er während dieser Zeit seine Agglutinierbarkeit durch Typhusserum in der ursprünglichen Stärke (1:2000) trotz häufigen Ueberimpfens beibehalten hatte, während die Beeinflussung durch Paratyphus B-Serum verschwunden war; Paratyphus A-Serum verursachte nach 8 Monaten eine Agglutination in der Verdünnung 1:200. Besonders hervorheben wollen wir, daß auch nach 3 Jahren die Agglutination des Stammes in Typhusserum eine absolut typische war. Der Stamm C 15 reagierte auch nicht etwa nur auf ein Typhusserum, sondern er wurde von einer ganzen Reihe verschiedener Typhussera stark beeinflußt, wenn auch in keinem Falle bis zur Titergrenze des betreffenden Serums.

Von 12 anderen Colistämmen aus der Sammlung des Instituts zeigten 2 mit Typhusserum eine Agglutination, einer nur schwach, ein anderer, frisch gezüchteter, ebenfalls bis 1:2000, die übrigen wurden nicht beeinflußt.

Mit dem Stamm C 15 stellten wir ein Serum her. Dieses agglutinierte den homologen Stamm bis zu 10000, von 11 geprüften Typhusstämmen, einen bis zu 1000, einen anderen bis 800, die übrigen nur bis zu 100 bzw. 200.



In der beschriebenen Kultur haben wir demnach einen Colistamm, der einerseits von Typhusserum selbst in höheren Verdünnungen auch noch 3 Jahre nach seiner Isolierung deutlich beeinflußt wird, und der andererseits ein Serum liefert, das einzelne Typhusstämme in relativ starken Verdünnungen mitagglutiniert.

Aus der Krankengeschichte des Falles sei kurz mitgeteilt, daß ausgesprochene Typhuserscheinungen klinisch nicht vorlagen, und daß auch bakteriologisch Typhusbazillen nicht nachgewiesen werden konnten.

Das eigenartige Verhalten dieses Stammes, sowie die in neuerer Zeit erschienenen Veröffentlichungen über auffällige Agglutinationsbefunde, z. B. die Arbeiten von Sobernheim und Seligmann, von Kuhn und Woithe usw., veranlaßten uns, an einem umfangreichen Material von Colistämmen aus Stühlen, die dem Untersuchungsamte zu diagnostischen Zwecken eingesandt wurden, die Frage zu studieren, ob und wie diese Stämme von den verschiedenartigsten Seris agglutinatorisch beeinflußt werden. Kuhn und Woithe haben eine starke wechselseitige Agglutination von Colistämmen und Kokken, die aus Ruhrstühlen stammten, durch Ruhrserum, und umgekehrt eine starke Beeinflussung von Ruhrbazillen durch Coliserum beobachtet. Sie nennen diese Erscheinung Paragglutination.

Wir prüften 342 Colistämme aus etwa 150 Stuhlproben, von denen 82 zur Untersuchung auf Typhus und 68 zur Untersuchung auf Ruhr eingesandt worden waren.

Die agglutinatorische Prüfung dieser Stämme erfolgte mit 19 verschiedenen Seris, und zwar mit Typhus-, Paratyphus A- und B-, Enteritis Gärtner-, Cholera-, Vibrio-Metschnikoff-, Dysenterie-Y-, Flexner- und Shiga-Kruse-serum, außerdem mit dem von dem eingangs beschriebenen Stamm C 15 hergestellten Serum sowie mit 9 Seris von „Blaustämmen“. Unter solchen verstehen wir aus Fleisch, Obst, Stuhl, Urin usw. gezüchtete Stämme, die auf Drigalski-Agar blau wachsen und sich auch sonst kulturell wie Paratyphus oder Typhus verhalten, serologisch jedoch mit bekannten Arten nicht zu identifizieren sind.

Die Agglutination geschah auf makroskopische Weise unter Zuhilfenahme der Lupe.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind nun kurz folgende:

259 Stämme aus 124 Stühlen zeigten mit keinem Serum eine Agglutination, selbst nicht bei einer Verdünnung 1:100.

61 Stämme aus 43 Stühlen wurden von irgend einem oder mehreren Seris schwach, d. h. bei Serumverdünnung unter 1:1000 agglutiniert. Von einer Besprechung dieser Ergebnisse soll hier abgesehen werden.

Dagegen sollen im folgenden die Agglutinationsergebnisse von 22 Stämmen aus 15 Stühlen, die von einem oder mehreren Seris in Serumverdünnungen 1:1000 und darüber beeinflußt wurden, kurz erörtert werden.

An dieser Stelle möchten wir bemerken, daß unsere zahlenmäßigen Angaben keine Rückschlüsse auf die Häufigkeit des Vorkommens derartiger Colistämme gestatten, da wir uns bewußt sind, daß wir bei der von uns angewandten Methode der Isolierung der Stämme — es wurden immer nur 2—4 Kolonien von der einzelnen Stuhlplatte abgeimpft — vielfach vom Zufall abhängig waren.

Auch 6 Stämme, die aus typhusverdächtigem Material stammten, können wir kurz abhandeln: Neben hoher Agglutinierbarkeit (bis 1:1000 bzw. 1:2000) gegenüber Typhusserum sahen wir bei einigen Stämmen starke



Beeinflussung durch irgend ein anderes der geprüften Sera. Bei anderen Stämmen erfolgte starke Agglutination nur mit einem oder mehreren anderen Seris, während Typhusserum nur schwach oder gar nicht reagierte.

Stamm 15II.

aus Stuhl, in dem Typhusbazillen nicht nachgewiesen wurden. Urin enthielt Typhusbazillen. Widal war positiv für Typhus. Es ergab sich Agglutination mit Typhusserum bis 2000, mit Gärtnerserum in allerdings nicht ganz typischer Weise bis 3000, mit Choleraserum bis 500 nur mit Blaustammserum Schwein 40 schwach bis 1000. Eine zweite aus demselben Stuhl gezüchtete Colikultur reagierte nur mit C 15-Serum bis 100.

Bei dem ebenfalls wegen Typhusverdacht eingesandten Material, von dem die Colistämme 32I, 43I, 53I, 56I und 60I herrührten, konnte die Diagnose Typhus bakteriologisch nicht sichergestellt werden.

Stamm 32I.

wurde mit C 15-Serum bis 2000, mit Typhus und einigen Blaustammseris bis 100 bzw. 500 agglutiniert.

Stamm 43I.

wurde von Typhusserum bis 1000, von C 15-Serum bis 2000, von Paratyphus A- und B-Serum bis 1000, von Gärtner- und einigen Blaustammseris nur bis 100 bzw. 150 beeinflußt.

Nach 8 Monaten hatte der Stamm seine Agglutinabilität gegenüber Typhusserum vollständig verloren, für C-15-Serum dagegen nicht. Auch Paratyphus B-Serum reagierte nach dieser Zeit schwächer.

Ein zweiter Colistamm desselben Stuhles agglutinierte von Anfang an nur mit Paratyphus-Serum bis 1:500.

Stämme 53I und 56I.

zeigten Agglutination mit Paratyphus A-Serum bis 1000. Weitere Kulturen derselben Stühle reagierten mit keinem der geprüften Sera.

Bei Stamm 60I.

finden wir Agglutination mit C 15-Serum bis 10000 d. h. zur Titergrenze des Stammes, mit Serum Vibrio Metschnikoff bis 1000, mit Typhus-, Gärtner-, Paratyphus A- und B-Serum bis 100 und mit 2 Blaustammseris bis 500.

Im allgemeinen verlieren die Colistämme ihre Agglutinierbarkeit gegenüber Typhusserum recht bald. Nur der vorhin erwähnte Stamm C 15 behielt sie bis heute d. h. 3 Jahre lang.

Aus 9 ruhrverdächtigen Stühlen haben wir 16 Colistämme gewonnen, bei denen mit irgend einem Serum eine Paragglutination eintrat. Wir wollen von diesen Stämmen hier nur einige herausgreifen.

Wir erhielten 2 Stämme aus einem Stuhl von einem Fall, bei dem am Tage der Isolierung der Colistämme Ruhrbazillen nicht nachgewiesen werden konnten. Am Tage vorher hatte die Vornahme der Widalschen Probe ein positives Resultat für Y-Ruhr ergeben. 6 Tage später wurden Y-Ruhrbazillen im Stuhl desselben Falles gefunden, Bei einem Colistamm aus diesem Stuhl sahen wir hohe Agglutination durch einige Blaustammsera eintreten, Y-



Serum reagierte nur bis 1:500. Ein anderer Colistamm aus demselben Stuhl wurde durch Y-Serum bis 1:4000, d. h. bis fast zur Titergrenze agglutiniert.

Eine Reihe anderer Stämme, die aus Stühlen stammten, in denen Y-Ruhrbazillen nachgewiesen wurden, bzw. in denen diese Krankheitserreger kurze Zeit vorher vorhanden gewesen waren, zeigten eine hohe Agglutinierbarkeit gegenüber Shigaserum, und zwar nur gegenüber diesem Serum. Die Agglutination war bei diesen Stämmen eine außerordentlich starke, z. T. bis weit über die Titergrenze des Serums hinausgehende.

Wir haben also aus Y-Ruhrstühlen Colistämme gezüchtet, die durch Y-Serum, bzw. Flexnerserum hoch agglutiniert wurden, und solche, die lediglich mit Shigaserum in auffallend starker Weise reagierten. Die Agglutinationswerte dieser Stämme zeigten nach ungefähr 6 bzw. 7 Monaten trotz häufigen Ueberimpfens keine nennenswerte Abnahme.

Stamm 38I und 38II.

sind aus einem Stuhl gezüchtet, der negativen Ruhrbazillenbefund darbot, der Widal war jedoch positiv für Ruhr.

Serum C 15 und Blaustammserum Schwein 40 reagierten bis 4000, Paratyphus A-Serum bis 1000, bei Stamm 38II bis 2000, Typhus-Serum bis 2000 bzw. 1000, Flexner-, Y-, Paratyphus B- und ein Blaustammserum nur bis 100. Nach 14 Monaten hatte die Agglutinabilität gegenüber Schwein 40 nicht, wohl aber gegenüber C 15- und Paratyphus B-Serum abgenommen, während gegenüber Typhusserum keine Agglutination mehr eintrat.

Stamm 45I.

rührt aus einem ruhrverdächtigen Stuhl mit negativem bakteriologischem Befund. Der Widal war angedeutet für Y-Ruhr.

Es ergab sich Agglutination mit Schwein 40-Serum bis 4000, mit Paratyphus A-Serum bis 2000, mit C 15-Paratyphus B- und Typhusserum bis 1000, mit Flexner- und einem Blaustammserum bis 500, mit Y- und 4 Blaustammseris bis 100.

Nach 14 Monaten ging die Agglutination mit Schwein 40-Serum noch bis 4000, mit Typhusserum gab der Stamm keine Agglutination mehr.

Stamm 76I und 76II.

wurden aus Y-Ruhrbazillen enthaltendem Stuhl gezüchtet. 67II reagierte mit Schwein 40- und Flexnerserum bis 1000, mit Y-Serum bis 500, mit Shiga- und 1 Blaustammserum bis 100. 76II agglutinierte mit Schwein 40-, Flexner- und Y-Serum bis 1000, mit einigen anderen Seris bis 100 bzw. 500.

Nach 8 Monaten wurden die beiden Stämme von Schwein 40-, Flexner- und Y-Serum etwas schwächer beeinflußt. Stamm 76III agglutinierte mit Serum C. 15 nach 14 Monaten bis 1000.

Stamm 105I—III.

Der Widal war angedeutet für Y-Ruhr. Ruhrbazillen wurden nicht nachgewiesen. Die Stämme zeigten Agglutination mit Y- und C. 15-Serum bis 1000, mit einigen Blaustammseris bis 500, mit Shiga- und Paratyphus-A-Serum bis 100.

Stamm 121III und 121IV.

entstammen einem Fall, bei dem am Tage ihrer Isolierung Ruhrbazillen im



Stuhl nicht nachgewiesen werden konnten. Am Tage vorher hatte die Vornahme der Widalschen Probe ein positives Resultat für Y-Ruhr ergeben. 6 Tage später wurden Y-Ruhrbazillen im Stuhl desselben Falles gefunden.

Bei Stamm 121III erhielten wir Agglutination durch die Blaustammsera Schwein 40 und Fleisch 72 bis 1:1000, durch Serum Pferd 25 bis 2000, durch Y-Serum bis 500, durch Shiga- und 2 Blaustammsera bis 100.

Eine gegenüber Y-Serum weitergehende Agglutination ergab sich bei dem anderen Stamm aus demselben Stuhl. Der Stamm 121IV zeigte mit Y-Serum Agglutination bis 1:4000 (der Titer dieses Serums ist 5000). Blaustammserum Schwein 40 und Serum Pferd 25 beeinflußte ihn bis 1000, Ty-, Shiga- und einige Blaustammsera beeinflußten ihn bis 100 bzw. bis 500. Nach 7 Monaten war eine wesentliche Abnahme der Agglutinationsfähigkeit nicht festzustellen.

Stamm 111I, 126I—III, 127III, 128I.

bilden eine Gruppe für sich. Ueber den bakteriologischen Befund der betreffenden Stühle ist im einzelnen folgendes anzuführen: Bei Stuhl 111 wurden zur Zeit der Isolierung Ruhrbazillen vom Typhus Y nachgewiesen; bei den Stühlen 126 bis 128 wurden zwar zu dieser Zeit keine Ruhrbazillen gefunden, sie hatten vielmehr solche kurze Zeit vorher beherbergt.

Die genannten Stämme zeigten serologisch ein gleichartiges Verhalten insofern, als sie alle durch Shigaserum und zwar nur durch dieses hoch agglutiniert wurden. Die Agglutination ging mit dem benutzten Shigaserum vom Titer 1600 bei dem Stamme 127III etwas, mit den anderen Stämmen weit über die Titergrenze hinaus, so wurden die Stämme 126I—III und 128I bis 3000 bzw. 3200 noch sehr stark beeinflußt, der Stamm 111I sogar bis 6400. Hervorgehoben ist, daß die Zusammenballung bei diesen Stämmen auch in höheren Verdünnungen in sehr großen Flocken auftrat, wobei die Zwischenflüssigkeit vollständig klar war. Diese außerordentlich starke Agglutination veranlaßte uns, neben den Kochsalzkontrollen auch solche mit normalem Kaninchenserum anzusetzen. In einigen Kontrollröhrchen traten hier und da fetzenartige Gebilde in trüber Zwischenflüssigkeit auf, die jedoch weder bei makroskopischer noch bei mikroskopischer Betrachtung mit echter Agglutination verwechselt werden konnten. Die Agglutinationswerte zeigten nach ungefähr 6 Monaten trotz häufigem Ueberimpfen der Kulturen keine nennenswerte Abnahme.

Um festzustellen, ob diese eigenartigen Colistämme neben agglutininbindenden, auch agglutininbildende Eigenschaften besitzen, haben wir mit ihnen Kaninchensera hergestellt. Es ergab sich, daß sowohl Y-Stämme durch Coli-Y-Kaninchenserum, als auch Shigastämme von Coli-Shiga-Kaninchenserum hoch agglutiniert werden. Von dem Coli-Y-Serum wurden die Coli-Shiga-Stämme nicht, und von dem Coli-Shiga-Serum die Coli-Y-Stämme nur schwach beeinflußt, ebenso wurden Typhusbazillen, Blaustämme und andere Colistämme von diesen Coliseris nicht, oder nur schwach agglutiniert.

Zusammenfassung.

1. Neben zahlreichen Fällen von Mitagglutination d. h. Beeinflussung von Colistämmen durch andersartige Sera bei niederen Verdünnungsgraden, konnten wir bei einer Reihe von Colistämmen, die wir aus Kranken- und krank-



heitsverdächtigen Stühlen gewonnen haben, Paragglutination (Beeinflussung durch höhere Verdünnungen heterologer Sera) beobachten.

2. In manchen Fällen tritt Paragglutination bei Verwendung des Serums des betreffenden Krankheitserregers ein. In anderen Fällen wirken daneben noch ein oder mehrere andersartige Sera. Es gibt aber auch Colistämme aus Krankenstühlen, die nur mit Seris reagieren, die mit dem Krankheitserreger in gar keinem Zusammenhang stehen.

3. Von einer allgemeinen Erhöhung der Agglutinierbarkeit solcher Colistämme kann nicht gesprochen werden, denn die Stämme werden immer nur von bestimmten Seris beeinflußt, während andere agglutinierende und normale Sera vollständig unwirksam bleiben.

4. In einem und demselben Stuhl finden sich neben paragglutinablen auch solche Colistämme, die auf kein Serum reagieren.

5. Die Paragglutination kann die Titergrenze des Serums erreichen, ja sogar gelegentlich weit überschreiten.

6. Sera, die mit paragglutinablen Colistämmen hergestellt sind, agglutinieren auch die entsprechenden Krankheitserreger. Der Charakter dieser Agglutination läßt sich von einer spezifischen in keiner Weise unterscheiden.

7. Die Beständigkeit der Paragglutination ist eine verschiedene gegenüber den verschiedenen Seris.

Für Typhusserum können wir im allgemeinen sagen, daß die Agglutinierbarkeit der betr. Colistämme bald nachläßt und verschwindet.

Eine Ausnahme bildet, wie bereits erwähnt, der Stamm C 15 der 3 Jahre fortgezüchtet, noch ebenso stark von einem Typhusserum beeinflußt wurde, wie nach seiner Isolierung.

Die Colistämme aus Ruhrstühlen haben bisher d. h. nach 4—12 monatiger Beobachtungszeit eine nennenswerte Abnahme ihrer besonderen agglutinatorischen Eigenschaften gegenüber den sie beeinflussenden Ruhrseris nicht gezeigt.

Eine Erklärung für das Phänomen der Paragglutination können wir auf Grund unserer bisherigen Versuche noch nicht geben. Es läßt sich nur die Annahme aussprechen, daß die Colibakterien im Darme von Kranken und möglicherweise von Gesunden biologische Alterationen erfahren. Dagegen, daß die Infektion die ausschließliche Ursache der Paragglutination darstellt, scheinen mancherlei Umstände zu sprechen.

IX. Ernst Pribram (Wien):

Versuch einer physikalisch-chemischen Differenzierung des Kolloidcharakters der Immunkörper.

Wer die Fortschritte der Toxinlehre und der Immunitätsforschung während des letzten Dezenniums aufmerksam verfolgt hat, mußte zur Ueberzeugung gelangen, daß viele der hier vorliegenden Probleme nur mit Hilfe physikalisch-chemischer Methoden zu lösen sind. Landsteiner und Zangger haben diese Erkenntnis zuerst ausgesprochen, und durch ihre Arbeiten und die zahlreicher anderer Forscher wurden ihre Ansichten gestützt und erweitert. In neuerer Zeit hat Traube an der Hand feiner



technischer Beweisführung gezeigt, daß nicht nur für die Toxinforschung, sondern für die ganze Toxikologie und Pharmakodynamik überhaupt der Kolliodchemie eine hervorragende Bedeutung zukommt. Auch ich konnte in früheren Arbeiten zeigen, daß pharmakodynamische Wirkungen mit großer physikalisch-chemischer Aktivität einhergehen, wie ich an den giftigen, pharmakodynamisch wirksamen Gliedern der Kokainreihe im Gegensatz zu den ungiftigen Gliedern dieser Reihe feststellen konnte. Neben rein physikalischen Methoden (Bestimmung der Kapillaraktivität) ließ sich diese Tatsache auch mit Hilfe biologischer Methoden erhärten, da cyto-toxische, hämolysierende, kompletierende Eigenschaften eiweißhaltiger Medien außerordentlich feine physikalisch-chemische Reagentien darstellen. Auf Grund meiner Untersuchungen zeigte ich damals, daß insbesondere die Kationenwirkung anorganischer Salze ganz auffallende Differenzen gibt, je nach der Valenz des Kations: zweiwertige Kationen wirken in bedeutend geringeren Konzentrationen als einwertige, die biologisch fast unwirksam sind. Noch viel intensiver ist die Wirkung dreiwertiger Kationen. Die anfangs von mir untersuchten Salze (Chloride) des As, Sb, Al, Fe erwiesen sich als wenig geeignet, da ihre Lösungen infolge starker hydrolytischer Dissoziation selbst in den höchsten Verdünnungen stark sauer reagieren. Ich setzte also diese Untersuchungen mit den dreiwertigen Salzen der seltenen Erden: La, Ce, Y usw. fort, die keine hydrolytische Dissoziation zeigen. Sie alle erwiesen sich außerordentlich aktiv, und gaben — nebenbei bemerkt — interessante Unterschiede in ihrer Wirksamkeit.

In einer jüngst erschienenen Arbeit hat inzwischen Mines im physiologischen Laboratorium der Universität Cambridge gezeigt, daß es mit Hilfe der Salze dreiwertiger Kationen möglich ist, den Kolloidcharakter eines Medium näher zu differenzieren. Es verhalten sich nämlich hydrophile Kolloide (Kolloide mit Emulsionscharakter) komplex gebauten dreiwertigen Salzen gegenüber anders als Suspensionskolloide.

Emulsionskolloide (Wo. Ostwald) oder hydrophile Kolloide (Perrin) stehen, wie Sie wissen, den echten Lösungen durch ihre innige Beziehung zum Dispersionsmittel (Wasser) viel näher als die Suspensionskolloide, welch letztere mehr den Charakter echter Suspensionen (suspendierter Kohleteilchen usw.) tragen, also mehr durch elektrische und andere physikalische Erscheinungen (Brownsche Molekularbewegung, gegenseitige Anziehungs- und Abstoßungskräfte) im Dispersionsmittel in Schwebe gehalten werden, als durch chemische und physikalisch-chemische Affinitäten zum Dispersionsmittel. Aus dieser Beziehung zum Dispersionsmittel erklärt sich eine Reihe von Differenzen im physikalischen Charakter der genannten Kolloide: Die optische Homogenität der Emulsoide bei ultramikroskopischer Betrachtung im Gegensatz zu den Suspensoiden, deren Kolloidteilchen im Ultramikroskop wahrnehmbar sind, und die durch Lichtreflexion das Tyndallphänomen geben, ferner die intensive Beeinflussung der Oberflächenspannung und der inneren Reibung durch die Emulsoide gegenüber dem indifferenten Verhalten der Suspensoide, endlich die bedeutend geringere Empfindlichkeit der ersteren gegen Elektrolyte gegenüber der außerordentlich hochgradigen Empfindlichkeit der letzteren.

Auf diesen letzterwähnten Umstand ist nun auch das verschiedene Verhalten der in Rede stehenden Kolloide gegenüber dreiwertigen Salzen erster („einfache Salze“) und zweiter Ordnung („komplexe Salze“) zurückzuführen. Die Kationen der ersteren haben bei gleicher Valenzgröße oder besser Affi-



nitätsgröße (Werner) ein kleineres Volumen (Atomvolum), daher ein größeres Potential, sind also gewissermaßen stärker geladen. Sie werden also auch Emulsionen gegenüber kräftige Wirkungen aufweisen, und flocken tatsächlich diese ebenso wie Suspensionen aus. Das große Kationvolum des komplexen Salzes hingegen weist bei der gleichen Affinitätsgröße (Valenz) ein entsprechend geringeres Potential auf, vermag also nur die leicht ausflockbaren Suspensoide, nicht aber die relativ wenig empfindlichen Emulsoide in ihrem Gleichgewichtszustande zu stören. (Mines).

An einem Beispiele aus der Fermentlehre will ich kurz den Gang und Zweck meiner Untersuchung erläutern: Setzt man eines der einfachen dreiwertigen Salze in hohen Verdünnungen ($\frac{n}{10000}$) zu roher Kuhmilch zu, so wird sie ausgeflockt (Eiweiß, Kaseïn, Fett); bei Verwendung noch höherer Verdünnungen ($\frac{n}{100000}$, $\frac{n}{1000000}$) gelangt man zu einer nicht mehr flockenden Grenze. Setzt man nun eine starkverdünnte Lablösung zu, so zeigt sich, daß die Milch bedeutend rascher gerinnt als eine Kontrolle ohne Zusatz. Ein komplexes dreiwertiges Salz, ich wählte in allen hier besprochenen Versuchen Luteocobaltchlorid, ($Co[NH_3]_6{}^{+++}Cl_3$), vermag in keiner, auch nicht in der stärksten möglichen Konzentration Milch auszuflocken. Der physikalische Charakter der Milch bleibt scheinbar unverändert, aber nur scheinbar. Denn das Labungsvermögen der Milch ist ebenso stark beeinflußt worden wie durch die hohen Verdünnungen der einfachen dreiwertigen Salze, und zwar genügen auch vom komplexen Salz $\frac{1}{10000}$ und $\frac{1}{100000}$ Normallösungen. Wir dürfen hieraus wohl schließen, daß durch den Labzusatz noch bevor die Labung eintritt, der Emulsionscharakter der Milch gestört wird, die Kolloidteilchen ihren innigen Zusammenhang mit dem Dispersionsmittel verlieren, und infolgedessen der Vorgang der Labung durch komplexe dreiwertige Salze erheblich beschleunigt wird. Daraus dürfen wir wohl den Schluß ziehen, daß durch den Labzusatz eine Lockerung der Affinität jener Kolloide zu ihrem Dispersionsmittel (Wasser) bewirkt wird, welche am Gerinnungsvorgang beteiligt sind. In ähnlicher Weise läßt sich auch für cytotoxische, hämolysierende, agglutinierende und präzipitierende Eigenschaften eiweißhaltiger Flüssigkeiten feststellen, ob ihre Wirkung mit einer derartigen Begünstigung des Suspensionscharakters des Substrates, auf das sie wirken, einhergeht. Selbstverständlich mußte auch stets der Kolloidcharakter des Substrates — vor Zusatz des sog. „Immunkörpers" geprüft werden.

1. Bakterienagglutination.

Bakterienaufschwemmungen werden durch keine Konzentration des komplexen Salzes ausgeflockt. Sie zeigen also nicht Suspensions- sondern Emulsionscharakter. Auch die agglutinierende Wirkung eines Immunserums (Typhusimmunserum) ließ sich durch das komplexe Salz gar nicht verstärken, wohl aber durch die einfachen dreiwertigen Salze, welche übrigens in Verdünnungen bis $\frac{n}{10000}$ Bakterien kräftig ausflocken.

2. Serumpräzipitation.

Das komplexe dreiwertige Salz verändert scheinbar in keiner Konzentration den physikalischen Zustand eines Serums. Setzt man aber ein prä-



zipitierendes Immunserum zu, so zeigt sich, daß dessen Wirkung außerordentlich beschleunigt und verstärkt wird:

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ $Co(NH_3)_6Cl_3$[1]) + 0,3 ccm Pf.-I.-S....
nach 2 Stunden dichter Niederschlag, Flüssigkeit klar.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ NaCllös. (0,9%) + 0,3 ccm Pf.-I.-S....
nach 2 Stunden dichte Trübung, kein Niederschlag, nach 24 Stunden Niederschlag.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ $Co(NH_3)_6Cl_3$ + 0,3 ccm Pf.-I.-S....
kein Niederschlag, Flüssigkeit bleibt klar (24 Stunden).

Auch die einfachen dreiwertigen Salze verstärken die Wirkung präzipitierender Sera; natürlich muß man in den Versuchen bis zu jenen Verdünnungen der Salze herabgehen, welche nicht mehr imstande sind, die Sera auszuflocken.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ $CeCl_3$[1]) + 0,3 ccm Pf.-I.-S....
nach 3 Stunden kein Niederschlag, nach 24 Stunden Niederschlag.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ $LaCl_3$[1]) + 0,3 ccm Pf.-I.-S....
nach 3 Stunden Niederschlag (reichl. Präzipitat), trübe Flüssigkeit.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ YCl_3[1]) + 0,3 ccm Pf.-I.-S....
nach 3 Stunden Niederschlag (reichliches Präcipitat), trübe Flüssigkeit.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ $CeCl_3$ + 0,3 ccm NaCllös. (0,9%)...
nach 3 Stunden leichte Trübung, nach 24 Stunden minimaler Niederschlag.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ $CeCl_3$ + 0,3 ccm NaCllös. (0,9%)...
nach 3 Stunden leichte Trübung, nach 24 Stunden minimaler Niederschlag.

0,5 ccm Pf.-S. $^1/_{100}$ + 0,1 ccm $\frac{n}{1000}$ YCl_3 + 0,3 ccm NaCllös. (0,9%) ...
nach 3 Stunden leichte Trübung, nach 24 Stunden minimaler Niederschlag.

3. Hämotoxine und Hämolysine:

In ähnlicher Weise wurden Hämotoxine und Blutkörperchen geprüft, welche letzteren, wie schon Mines gezeigt hat, nur durch die einfachen dreiwertigen Salze sehr intensiv agglutiniert werden, nicht aber durch komplexe. Sie verhalten sich demnach nicht etwa wie Lezithinsuspensionen, was wohl einen Rückschluß auf die chemische Zusammensetzung ihrer Oberfläche aus Emulsionskolloiden (Eiweiß), oder wenigstens auf das Ueberwiegen von Emulsionskolloiden in der Oberfläche gestattet. Bakterienhämotoxine werden in ihrer Wirkung durch komplexe Salze ein wenig abgeschwächt, aber nicht erheblich.

Stärker werden komplexe Hämolysine (Serumhämolysine) durch das komplexe dreiwertige Salz gehemmt, das hier wahrscheinlich nicht auf das Komplement, sondern auf das Immunserum wirkt. Letzteres zeigt wegen der vorausgegangenen Erhitzung Suspensionscharakter, und wird deshalb durch das komplexe Salz beeinflußt.

[1]) Die Lösung des $Co(NH_3)_6Cl_3$ erfolgte in allen Versuchen in 0,9%iger Kochsalzlösung, ebenso die der anderen Salze.



4. Tetanustoxin.

Auch Toxine (Tetanustoxin) werden sehr intensiv abgeschwächt durch die einfachen dreiwertigen Salze. Die Wirkung des komplexen Salzes konnte wegen der hohen Giftigkeit des Luteokobaltchlorids für Mäuse bisher nur in hohen Verdünnungen geprüft werden, ergab aber auch in dieser Verdünnung eine deutliche Abschwächung des Toxins (Verzögerung des Eintrittes des Tetanus).

0,9% Kochsalzlös., enth. 0,0001 g Tet.-Tox. u. $\frac{n}{1000}$ $CeCl_3$ in 1 ccm dav. 1 ccm subk., Maus No. 1.

Am 4. Tag leichter Tetanus, der ca. 8 Tage bestehen bleibt, das Tier überlebt.

0,9% Kochsalzlös., enth. 0,0001 g Tet.-Tox. u. $\frac{n}{1000}$ $LaCl_3$ in 1 ccm dav. 1 ccm subk., Maus No. 2.

Am 2. Tag leichter Tet., am 3. Tage schwerer Tetanus, stirbt am 6. Tage.

0,9% Kochsalzlös., enth. 0,0001 g Tet.-Tox. u. $\frac{n}{1000}$ YCl_3 in 1 ccm dav. 1 ccm subk., Maus No. 3, bleibt glatt (am 6. Tage vorübergehende leichte tetan. Erscheinungen), überlebt.

Kontrolle: 1 cm³ 0,9% Kochsalzlösung, enth. 0,000 g Tet.-Tox., Maus No. 4.

Am 2. Tage leichter Tetanus, am 3. Tage schwerer Tetanus, stirbt am 5. Tage.

Höhere Verdünnungen:

0,9% Kochsalzlös., enth. 0,0001 g Tet.-Tox. u. $\frac{n}{10000}$ $CeCl_3$ in 1 ccm dav. 1 ccm subk., Maus No. 5.

Am 3. Tage Tetanus, stirbt am 5. Tage.

0,9% Kochsalzlös., enth. 0,0001 g Tet-Tox. u. $\frac{n}{10000}$ Luteocobaltchlorid in 1 ccm dav. 1 ccm subk., Maus No. 6.

Am 3. Tage Tetanus, stirbt am 5. Tage.

---

3. Tag. 1. Juni 1912 nachmittags

Vorsitzender: Martini (Wilhelmshafen).

I. E. Ungermann (Gr. Lichterfelde):

Ueber die quantitativen Verhältnisse bei der Wirkung antiinfektiöser Immunsera.

Die qualitative Seite der Antikörperwirkung ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Das Versagen serotherapeutischer Maßnahmen wurde vielfach auf die Art des Immunserums zurückgeführt und man war bestrebt, durch Erzeugung von Antikörpern von ganz besonderer Wirkungsweise heilkräftigere Sera zu gewinnen. Die Frage dagegen, unter welchen Bedingungen ein Immunserum quantitativ stark genug ist, um im Körper des Menschen eine Heilwirkung wahrscheinlich erscheinen zu lassen, ist meist nicht genügend berücksichtigt worden.

Es handelt sich dabei im wesentlichen erstens darum, welche Beziehungen zwischen dem Körpergewicht des zu schützenden Organismus und der Menge des erforderlichen Immunserums bestehen und zweitens, welche Serummengen zum Schutze gegen große und kleine Infektionsdosen erforderlich sind.



Beide Fragen fallen im Grunde mit dem Problem zusammen, ob die Antikörper im Organismus nach ihrer absoluten Menge wirken, oder ob es auf den Grad ihrer Verdünnung in den Körpersäften und Geweben ankommt.

Auf diese Fragen der quantitativen Verhältnisse hin wurde von mir in Gemeinschaft mit Dr. Kandiba die Wirkung einiger Immunsera im Tierkörper untersucht.[1]) Ueber das Ergebnis der Versuche mit Pneumokokkenserum ist schon in der vorjährigen Tagung dieser Gesellschaft berichtet worden. Ich verweise daher auf die dort mitgeteilten Versuche.

1. In derselben Weise wie das Pneumokokkenserum wurde auch das Streptokokkenserum untersucht. Das Ergebnis einer Auswertung seiner Schutzkraft bei Mäusen zeigt diese Tabelle.

Infektionsdosis	0,01 ccm Serum	0,002 ccm Serum	0,001 ccm Serum	**Kontrollen**
0,01	+ + +	+ + +	+ + +	
0,001	+ — —	+ + +	+ + +	
0,0001	— — —	+ + —	+ + —	
0,00001	— — —	+ + +	+ — —	
0,000001	— — —	+ + —	+ + —	+
0,0000001				+

+ = Maus an Streptokokken eingegangen.
— = Maus überlebt.

Danach schützt 0,01 ccm ziemlich sicher gegen das 10000fache der Dosis letalis minima, während schon der fünfte Teil dieser Serummenge auch selbst gegenüber der 10fach tödlichen Dosis versagt. Es findet also wie beim Pneumokokkenserum bei einer bestimmten Serummenge ein plötzlicher starker Abfall der Schutzwirkung statt. Von einer Geltung des Gesetzes der Multipla ist also auch bei der Schutzwirkung des Streptokokkenserums im Körper der Maus nichts zu erkennen. Ganz ähnlich liegen wiederum die Verhältnisse beim Kaninchen, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist.

Infektionsdosis	10 ccm Serum	1 ccm Serum	0,05 ccm Serum	0,01 ccm Serum	**Kontrollen**
0,1	—	+	+	+	
0,01	—	—	+	+	
0,001	—	+	+	+	
0,0001	—	—	+	+	
0,00001	—	—	+	+	
0,000001	—	—	+	—	
0,0000001	—	—	—	+	+
0,00000001			—	—	+

Aus ihr geht hervor, daß 1 ccm des Immunserums einen starken noch gegen das millionfache der tödlichen Dosis wirksamen Schutz entfaltet, während schon der 20. Teil dieser gut schützenden Menge fast keine Schutzwirkungen mehr ausübt.

[1]) Die ausführliche Publikation der Versuche zu 1. bis 3., auf die bezüglich aller Einzelheiten hingewiesen sei, erfolgt in den „Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt".

Also auch beim Streptokokkenserum steigen und fallen die Bakterienmengen sehr viel schneller wie die Serummengen und zwar wie beim Pneumokokkenserum nicht gleichmäßig, sondern derart, daß bei einer gewissen Serumquantität die Kulturdosis, gegen die sie zu schützen vermag, einen sehr viel größeren Sprung macht. Die wirksame Serummenge steht zum Körpergewicht der Maus und des Kaninchens etwa im selben Verhältnis; für das durchschnittlich 100 mal schwerere Kaninchen ist auch annähernd 100 mal mehr Serum erforderlich.

2. Weiterhin wurde das Verhalten der Schutzkraft des Rotlaufserums untersucht. Diese Versuche sind nur an der Maus ausgeführt worden.

Infektionsdosis	0,05 ccm Serum	0,0025 ccm Serum	0,005 ccm Serum	Kontrollen
1,0	+			
0,5	—	+	+	
0,3	—	+	+	
0,1	—	+	+	
0,03	—	+	+	
0,01	—	+	+	+
0,003		+	+	—
0,001		+	+	+

Wie der hier dargestellte Versuch zeigt, treten auch bei der Wirkung dieses Serums ganz ähnliche Verhältnisse zutage wie bei der Wirkung der bisher besprochenen antiseptikämischen Immunsera. Eine Dosis 0,05 ccm schützt sicher noch gegen ein großes Multiplum der tödlichen Bakterienmenge, der 20. Teil dieser gut wirkenden Menge schützt aber überhaupt nicht mehr. Es bestehen mithin wieder keine direkten Beziehungen zwischen der Menge des Antigens und des zum Schutze erforderlichen Immunserums. Auch bei der Schutzwirkung des Rotlaufserums dürfte es also im wesentlichen auf die Konzentration des Antikörpers in den Geweben ankommen.

Alle drei bisher besprochenen Immunsera zeigen weitgehende Analogien in ihrer Wirkungsweise: sie schützen nur dann sicher, wenn sie in einem gewissen vom Körpergewicht der Tiere abhängigen Schwellenwert der Konzentration im Organismus kreisen. Ist dieser Schwellenwert erreicht, dann kommt die Menge des Infektionsstoffes für die Schutzwirkung nicht sehr in Betracht. Qualitativ wirken die drei Sera wesentlich phagocytär.

3. Es lag nahe, festzustellen ob diese bei den Septikämieerregern als gültig befundenen quantitativen Verhältnisse auch bei anderen Krankheitsprozessen zutage treten würden. Es wurde daher eine Reihe von Versuchen mit einem ganz anders gearteten Erreger, dem Choleravibrio, vorgenommen. Als Versuchstier diente das Meerschweinchen, der verwendete Cholerastamm war die Cholera 74; der Stamm besaß eine sehr hohe Virulenz, so daß Meerschweinchen vom Peritoneum aus schon mit $^1/_{80}$, später sogar mit $^1/_{100}$ und $^1/_{200}$ Oese getötet wurden. Dieser virulente Stamm wurde gewählt, um die Infektionsdosis in ziemlich weiten Grenzen unterhalb 1 Oese variieren zu können und wenigstens nach der Seite der Virulenz hin allzu große Unterschiede gegenüber den septikämischen Infektionserregern zu vermeiden. Die Vibrionen töteten Meerschweinchen auch bei intravenöser Impfung, anfänglich mit $^1/_{40}$ Oese, später auch mit $^1/_{80}$ Oese, jedoch nicht regelmäßig, so daß zur intravenösen Infektion stets nur $^1/_{10}$ Oese benutzt



wurde. Bei den eingegangenen Tieren fanden sich die Vibrionen auch nach intraperitonealer Impfung regelmäßig im Blut und in den Organen; ihr Nachweis gelang schon mikroskopisch. Diese allgemeine Verbreitung der Erreger im Organismus ist sicher ganz anders zu bewerten, als bei den septikämischen Infektionen. Bei diesen letzteren steht sie mit den Krankheitserscheinungen und dem schließlichen Exitus in engem Zusammenhange, bei den Choleravibrionen handelt es sich wohl nur um eine prämortale Ueberschwemmung des Organismus von der überreichen Wucherung der Keime am Orte der Infektion.

Es wurde nun versucht, festzustellen, wieviel Immunserum zum Schutze gegen Infektionsdosen von einer Oese abwärts bei verschiedener Applikation des Antigens und des Antikörpers nötig ist.

Zunächst wurden die Serummengen bestimmt, die im Pfeifferschen Versuch zur Schutzwirkung gegen 1, $^1/_{20}$ und $^1/_{100}$ Oese nötig sind. Diese Versuche sind in der nachstehenden Tabelle so zusammengerechnet worden, daß bei jeder Dosis die Prozentzahlen der überlebenden Tiere zu ersehen sind.

I. Schutzwirkung im Pfeifferschen Versuch.

Infektionsdosis 1 Oese		Infektionsdosis $^1/_{20}$ Oese		Infektionsdosis $^1/_{100}$ Oese	
Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere	Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere	Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere
0,002	100	0,0001	100	0,00002	100
0,001	100	0,00005	50	0,00001	100
0,0005	60	0,00002	0	0,000005	50
0,0002	14	0,00001	0	0,000002	0
0,0001	0				
0,00005	0				
0,00002	0				

II. Schutzwirkung bei intravenöser Serum- intraperitonealer Kulturapplikation.

Infektionsdosis 1 Oese		Infektionsdosis $^1/_{20}$ Oese		Infektionsdosis $^1/_{80}$ u. $^1/_{100}$ Oese	
Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere	Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere	Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere
1,0	100	0,01	100	0,01	100
0,5	100	0,005	100	0,0025	100
0,3	100	0,0025	100	0,002	100
0,2	100	0,002	60	0,0005	100
0,05	50	0,0005	50	0,0002	50
0,02	50	0,0002	50	0,0001	50
0,01	0	0,0001	0	0,00005	0
0,002	0	0,00005	0	0,00002	0
0,0002	0			0,000002	0

Beim Vergleich der Serummengen, die gegen die benutzten Kulturdosen sicheren Schutz gewähren, zeigt sich sogleich, daß die Verhältnisse hier ganz anders liegen als bei den septikämischen Infektionen. Es bestehen zwischen der Menge des Choleraantigens und der zum Schutz erforderlichen



III. Schutzwirkung bei gleichzeitiger intravenöser Kultur- und Seruminjektion.

Infektionsdosis 1 Oese		Infektionsdosis $^1/_{10}$ Oese	
Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere	Serumdosis	% Zahl der überlebenden Tiere
0,05	100	0,02	100
0,02	100	0,01	100
0,01	100	0,005	100
0,002	33	0,001	100
0,001	0	0,0005	100
0,0005	0	0,0002	0
0,0001	0	0,0001	0

Serumdosis enge Beziehungen. Gegen 1 Oese schützt 0,001 ccm Serum; gegen $^1/_{20}$ Oese schützt mit Sicherheit der 10. Teil dieser Antikörpermenge, gegen $^1/_{100}$ Oese genau der $^1/_{100}$ste Teil. Bei der Cholerainfektion steigen und fallen also die Serummengen annähernd im selben Verhältnis wie die Kulturdosen, so daß bei der Infektion mit Vibrionenmengen unter 1 Oese die Annahme der Gültigkeit des Gesetzes der multiplen Proportionen viel für sich hat.

In einer zweiten Reihe von Versuchen wurde die Kultur und das Antiserum getrennt injiziert, die Vibrionen intraperitoneal, das Serum intravenös. Das Ergebnis dieser Prüfungen war unregelmäßiger als das der Versuche nach der Pfeifferschen Methode.

Wie aus den Zahlen des zweiten Teils dieser Tabelle hervorgeht, ist bei dieser Versuchsanordnung zum sicheren Schutz gegen 1 Oese etwa 200 mal mehr Serum erforderlich als im Pfeifferschen Versuch. Vergleicht man die Zahlen dieser Versuchsreihe untereinander, so ergibt sich, daß bei der Infektion mit $^1/_{20}$ Oese schon der 80. Teil der gegen 1 Oese schützenden Dosis ausreicht und daß für $^1/_{100}$ Oese sogar schon der 400. Teil der gegen 1 Oese schützenden Menge genügt. Während sich also die Kulturdosen in diesem Versuch wie $1:^1/_{20}:^1/_{100}$ verhalten, stehen die Serumdosen im Verhältnis von $1:^1/_{80}:^1/_{400}$. Hier also hat das Gesetz der Multipla auch keine strenge Gültigkeit, die Abweichung liegt aber gerade umgekehrt wie bei den Septikämien: bei diesen erforderten kleine Kulturmengen relativ große Serumdosen zur Schutzwirkung, bei der Cholerainfektion ist in dieser Versuchsanordnung den kleinen Infektionsdosen gegenüber weniger Serum nötig, als nach dem Gesetz der Multipla erforderlich wäre. Diese Abweichung dürfte indes nur eine scheinbare sein; wir haben sie uns dadurch erklärt, daß bei dem langsamen Verlauf einer Infektion mit sehr kleinen Kulturmengen eine größere Quantität der nach intravenöser Injektion im Blute kreisenden Antikörper Gelegenheit geboten wird, in den Infektionsprozeß einzugreifen.

Schließlich wurde noch versucht, zu entscheiden, wieviel Serum notwendig ist, um mit der Kultur zugleich intravenös injiziert verschiedene Kulturdosen unschädlich zu machen. Zu diesen Versuchen wurden 1 und $^1/_{10}$ Oese benutzt. Wie sich aus dem dritten Teil dieser Tabelle ergibt, genügt in diesem Falle zum Schutz gegen 1 Oese das 10 fache der im Pfeifferschen Versuch gegen diese Kulturmenge wirksamen Dosis und gegen $^1/_{10}$ Oese schützt etwa der 20. Teil der gegen 1 Oese wirkenden Antikörperquantität. Bei dieser Versuchsanordnung, wo eine Differenz der Verteilung der beiden



Komponenten vermieden ist, tritt die Gültigkeit des Gesetzes der Multipla wieder zutage.

Die Unterschiede in der Schutzwirkung der Immunsera bei septikämischen Prozessen und bei der Cholerainfektion lassen sich dahin zusammenfassen, daß bei den ersteren innerhalb ziemlich weiter Grenzen keine Beziehungen der erforderlichen Serumdosen zur Menge des Antigens bestehen, wohl aber zur Körpermasse des zu schützenden Tieres. Beim Choleraserum dagegen bestehen enge quantitative Beziehungen zwischen Antigen und Antikörper; diese Beziehungen nehmen wenn keine ungleiche räumliche Verteilung die Bindung der Komponenten hemmt, den Charakter des Gesetzes der multiplen Proportionen an.

Als Ursache dieses verschiedenen quantitativen Verhaltens der Sera bei der Schutzwirkung im Tierkörper kommt wohl trotz des differenten Mechanismus ihrer Wirkung, die bei den 3 antiseptikämischen Seren eine wesentlich phagocytäre, beim Choleraserum eine bakteriolytische ist, nicht die Art der Antikörper, sondern der Charakter der Infektionsprozesse an erster Stelle in Betracht. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß zur hinreichenden Sensibilisierung sowohl ein Choleravibrio wie ein septikämischer Keim eine bestimmte Menge eines Antikörpers von bestimmter Wertigkeit braucht. An sich dürften zwischen jedem Antigen und dem entsprechenden Antikörper einfache, direkt proportionale Multiplaverhältnisse bestehen. Im Organismus ändern sich diese Beziehungen mit der Art der Infektionserreger. Die Choleravibrionen werden, wenn sie am Orte der Infektion die notwendige Immunkörpermenge vorfinden, rapid aufgelöst und die Infektion kommt so zu einem raschen Ende. Eine Verschleppung des Prozesses durch einzelne Vibrionen, die der Serumwirkung auf irgendeine Weise entgangen sind, kann nicht erfolgen, da vereinzelte Keime im Organismus keinen Boden für eine weitere Entwicklung vorfinden. Bei dieser Infektion kommen also fast nur die am Orte der Kulturinjektion vorhandenen oder dorthin sezernierten Antikörper in Betracht.

Bei den Septikämieerregern dagegen findet entsprechend ihrer maximalen Virulenz jeder Keim an jeder Stelle des Organismus die Möglichkeit einer weiteren Entwicklung; jeder Punkt des Organismus kann zum Ausgang eines neuen Schubes der Infektion werden, falls nicht an ihm die genügende Antikörpermenge vorhanden ist, um die Infektionsfunken zu löschen. Also gerade auf die hinreichende allgemeine Durchtränkung des Organismus mit den Immunkörpern kommt es bei den septikämischen Injektionen an. Je mehr Ansiedlungsgebiete der Körper den Keimen bietet, je größer das Versuchstier ist, um so mehr Serum ist zu seinem Schutze nötig. Bei ungenügender Sättigung des Körpers mit den Immunstoffen ist es für den Ausgang gleich, ob an den Stellen der ersten Infektion viele oder wenige Keime der Vernichtung entgehen. Eine wirksame Serummenge wird daher gegen kleine und gegen große Infektionsdosen innerhalb gewisser Grenzen etwa gleich gut schützen, eine nicht hinreichende wird gegen wenig Bakterien ebenso machtlos sein wie gegen größere Mengen.

Obwohl also nichts dagegen spricht, daß der Antikörper auch mit den septikämischen Keimen nach der absoluten Menge in Reaktion tritt, wirkt er doch im Organismus durchaus nach dem Grade seiner Verdünnung, nach der Konzentration. Bei der Cholerainfektion spielt die Körpermasse nur die Rolle eines Verdünnungsmittels, das bei gleichmäßiger Verteilung des Immunserums dem lokalen Prozeß einen großen Teil der Antikörper entzieht. Wird



dieser verdünnende Einfluß der Körpermasse durch lokale Applikation des Serums an der Infektionsstelle ausgeschaltet, so vollzieht sich der Prozeß auch im Organismus ähnlich wie im Reagenzglase nach der absoluten Menge und folgt daher annähernd dem Gesetze der Multipla.

4. Bei den bisher besprochenen Prozessen liegen nun ganz extreme Verhältnisse vor, wie sie in der menschlichen Pathologie nicht häufig zu beobachten sind: einerseits rein septikämische Vorgänge, andererseits streng lokal begrenzte Infektionen mit vorwiegend toxischer Allgemeinwirkung. Es war nun von Interesse, eine Erkrankung im gleichen Sinne zu untersuchen, die in ihren Verhältnissen zwischen diesen Extremen steht. Dazu bot die Pneumokokkeninfektion des Meerschweinchens gute Gelegenheit. Beim Meerschweinchen, das ja auch spontan nicht selten an lokalisierten Pneumokokkenaffektionen erkrankt, wuchern die Pneumokokken im Gegensatz zum Kaninchen und zu der Maus vorwiegend am Orte der Infektion, doch finden sich auch im Blute und den Organen die Erreger, wenn auch nur in mäßiger Zahl. Die künstliche Infektion des Meerschweinchens gelingt leicht und mit relativ kleinen Kulturmengen bei Impfung in die Lunge oder ins Peritoneum, unsicher und erst mit größeren Dosen bei Impfung ins subkutane Gewebe; nach dieser letzteren Infektion entsteht eine progrediente Phlegmone, in deren sauguinolentem Oedem sich die Erreger massenhaft vorfinden. Während nun beim Kaninchen und bei der Maus die Serumwirkung durch die Art der Applikation des Antikörpers und den Infektionsmodus nicht wesentlich beeinflußt wird, zeigt sie beim Meerschweinchen eine starke Abhängigkeit vom Sitze der Infektion. Gegen pulmonale Impfungen schützt eine intravenöse Seruminjektion schon bei relativ kleinen Dosen, wie sich aus dieser Tabelle ergibt. Hier tritt die Wirkung schon bei 0,03 zutage.

Infektionsdosis	0,3 ccm Serum		0,03 ccm Serum		0,003 ccm Serum		Kontrollen	
	Leb.	Tot	Leb.	Tot	Leb.	Tot	Leb.	Tot
0,05 ccm Pneum. intrapulmonal	3	1	3	1	0	4	0	2

Gegen die intraperitoneale Impfung schützt das Serum bei intravenöser Applikation etwas weniger gut, besser bei peritonealer Injektion. Das zeigt der hier dargestellte Versuch.

Infektionsdosis	Serumdosis	Intravenöse Serum-applikation	Intraperitoneale Serum-applikation
0,05 ccm Pneum. intraperitoneal	0,3	—	—
	0,1	—	—
	0,03	+	—
	0,01	+	—
	0,003	+	+



Intravenös schützt das Serum mit 0,1 ccm, intraperitoneal mit der 10 fach kleineren Dosis.

Ganz ungünstig liegen aber die Verhältnisse bei sukbutaner Infektion. Dieselbe ist unsicher und nur bei Impfung mit großen Kulturdosen zu erzielen. Ist sie aber gelungen, dann gewährt auch eine sehr beträchtliche intravenös eingeführte Serummenge keinen Schutz: die Tiere sterben mit 1 ccm Immunserum ebenso schnell wie die Kontrollen. Bemerkenswert ist dabei, daß das Blut und die Organe der mit Serum behandelten Tiere von Pneumokokken fast frei sind.

Im allgemeinen sind demnach die lokalen Infektionsprozesse der Serumwirkung viel schwieriger zugänglich als septikämische Allgemeininfektionen. Bei den lokalen Infektionen ist das Organ, in dem der Prozeß sich entwickelt, für die Serumwirkung von Bedeutung. Die Lunge mit ihrem großen Gefäßreichtum, der ein reichliches Zuströmen der im Blut kreisenden Antikörper zu einem dort gelegenen Infektionsherde ermöglicht, wird lokale Infektionen bei intravenöser Serumapplikation leichter zu beeinflussen gestatten, als die gefäßarme Subkutis. Der Wirkungsmechanismus des Serums dürfte dabei kaum in Betracht kommen, denn dasselbe Pneumokokkenserum zeigt denselben Erregern gegenüber in verschiedenen Tierkörpern bei verschiedenem Charakter der Infektion eine verschiedene Wirkung.

Die Hauptaufgabe für die Serumtherapie dürfte u. E. in den meisten Fällen nicht in der Erzeugung qualitativ besonders gearteter Immunsera, sondern in der Ueberwindung der durch die quantitativen und Verteilungsverhältnisse bedingten Schwierigkeiten gegeben sein.

Diskussion:

Jacobsthal (Hamburg): Es wird Sie vielleicht interessieren, einen praktischen Beitrag zu den theoretischen Auseinandersetzungen von Herrn Ungermann zu hören. Auf der direktorialen Abteilung des St. Georger Krankenhauses in Hamburg hat Herr Dr. Weitz gegen 40 Fälle von Pneumonie mit dem Neufeld-Händelschen Pneumokokkenserum behandelt. Bei uns wurden niemals die verzettelten Dosen angewandt, sondern sogleich mit 20—40 ccm Serum intravenös begonnen, und bei nicht gleich eintretendem Erfolge diese Einspritzungen wiederholt (bis zu 10 mal). Der Erfolg war in einer großen Reihe von Fällen ein schneller Temperaturabfall am nächsten Tage. Hierüber wird Herr Weitz noch selbst berichten. Hier habe ich Ihnen die Kurve eines der wenigen letal verlaufenen Fälle mitgebracht. Sie sehen daraus, daß der Kranke insgesamt 315 ccm Serum erhielt; leichte Temperaturabfälle nach den Injektionen konnten aber das Ende nicht abwenden. Bemerkenswert an diesem Falle ist, daß vor der Einspritzung 2000—3000 Pneumokokkenkolonien in 10 ccm Blut gefunden wurden, am nächsten Tage nur 21, die späteren Blutuntersuchungen ergaben ebenso wie die Platten aus dem Leichenblut eine völlige Sterilität. Wichtig ist, daß auch aus der Lunge, die eine Pneumonie in beginnender Lösung aufwies, sich zwar mikroskopisch punktförmige graupositive, durch ihre Anordnung als Pneumokokkenreste erkennbare Gebilde fanden, daß aber kulturell die Lunge vollkommen steril blieb.

Es fragt sich vielleicht, ob solch hohe Serumdosen wie hier angewendet werden, nicht an sich bedenklich sind. Ich kann nur sagen, daß bei uns Zwischenfälle nie gesehen wurden. Es interessierte mich nun, ob das nach Injektion hoher Pferdeserumdosen im Urin auftretende Eiweiß vom Pferde oder Menschen stammte. Der Harn eines solchen Kranken, der nach Esbach nicht meßbare Mengen Eiweiß enthielt, während die Kochprobe eine hauchartige Trübung ergab, wurde gegen fließendes Wasser dialysiert, und zwei Meerschweinchen erhielten je 8 ccm der fast salzfreien Flüssigkeit. Nach 17 Tagen erhielt das eine Tier 1 ccm inaktives Menschenserum, das andere ebensoviel Pferdeserum intravenös. Beide Tiere starben nach 1—3 Minuten an typischer Anaphylaxie. Damit ist erwiesen, daß gleichzeitig Pferde- und Menscheneiweiß mit dem Harn ausgeschieden war



und zwar in einer so geringen Menge, daß die Präzipitationsprobe nach Uhlenhuth zum Nachweise mißlang.

Neufeld (Berlin): Der mitgeteilte Fall ist insofern von großem Interesse, als gerade des letalen Verlaufs wegen das Verschwinden der Pneumokokken aus dem Körper hier wohl nur auf die Serumwirkung zurückgeführt werden kann. Es wäre aber sehr erwünscht, daß auch über die übrigen in Hamburg mit Serum behandelten Pneumonen alsbald näheres mitgeteilt wird, und zwar um den Klinikern, die doch vielleicht gegen große intravenöse Serumgaben Bedenken haben, zu zeigen, daß solche Injektionen bei Pneumonie ohne Schaden gemacht worden sind und daß eine gewisse Wirkung des Serums, vor allem auf den Keimgehalt des Blutes vorhanden ist. Ob, wie ich annehmen möchte, gerade die septikämische Allgemeininfektion bei der Pneumonie von besonderer Bedeutung ist, und ob wir mit unserem Pneumokokkenserum wirklich die menschliche Pneumonie günstig beeinflussen können, darüber können wir jetzt noch nichts Bestimmtes sagen; ich bin aber sicher, daß wir die Frage nur dann entscheiden werden, wenn man sich dazu entschließt, eine größere Zahl von Fällen systematisch in der von mir und Händel empfohlenen Weise mit großen intravenösen Serumgaben zu behandeln.

II. F. Neufeld und E. A. Lindemann (Gr. Lichterfelde):

Beitrag zur Kenntnis der serumfesten Typhusstämme.

Das Vorkommen serumfester Typhusstämme hat schon lange die Aufmerksamkeit der Bakteriologen erregt, da diese Kulturen sowohl vom Standpunkt der allgemeinen Immunitätslehre als auch vom diagnostischen Standpunkt von Bedeutung sind. Von großem Interesse ist die Serumfestigkeit auch insofern, als die Gewöhnung der Typhusbazillen an die Antistoffe des menschlichen Organismus anscheinend für den Verlauf des Typhus, insbesondere für das Auftreten der Rezidive, sowie schließlich auch für die Frage der Aussichten einer Serumtherapie des Typhus bedeutungsvoll ist. Hierauf ist Ehrlich in seinem vorjährigen Referat in dieser Versammlung eingegangen.

Wenn man früher, bei Prüfung im Pfeifferschen Versuch und im Agglutinationsversuch, vielleicht das Vorkommen von serumfesten Typhusstämmen, wenigstens von solchen, die die Serumfestigkeit bei Züchtung auf künstlichen Nährböden längere Zeit beibehalten, für eine verhältnismäßig seltene Ausnahme halten konnte, so geht aus der im vorigen Jahre von Schlemmer[1]) veröffentlichten Arbeit über serumfeste Typhusstämme das Gegenteil hervor.

Allerdings hat Schlemmer die Prüfung auch in anderer Weise vorgenommen, nämlich im baktericiden Plattenversuch. Der Autor prüfte 59 von ihm selbst isolierte Typhusstämme, von denen die Mehrzahl von Bazillenträgern, andere von Typhuskranken herstammten. Schlemmer hebt hervor, daß gerade der Plattenversuch (im Gegensatz zum Pfeifferschen Versuch) geeignet sei, feinere Unterschiede in bezug auf Serumfestigkeit erkennen zu lassen, und die Frage zu entscheiden, ob es Uebergangsformen zwischen serumempfindlichen und serumfesten Stämmen gibt. In der Tat fand Schlemmer solche Uebergangsformen sehr häufig. Er konnte gewissermaßen eine gleichmäßige Reihe von Abstufungen zwischen fast völlig serumfesten und höchst serumempfindlichen Kulturen aufstellen. Im ganzen

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. IX, 149.



Tabelle I.[1])

Bakterizide Plattenversuche.

	Stämme	Komplement-menge	Kontrollen: Sofort. Aussaat	Kontrollen: Aussaat nach 3½—4 Std.	Kontrollen: desgl. m. Komplement	Platten mit spezifischem Serum (Kaninchen 55): 1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	1:1 Million	1:10 Million	1:100 Million
Vers. I Einsaat 1/40 000 Öse	Hör	0,025	25 000	60 000	40	25 000	50 000	3000	250	3	0	.	.
	Ohlig II	0,025	25 000	50 000	17 000	22 000		Je 10	bis 20	Kolonien		.	.
	Kaufmann	0,025	22 000	50 000	6 000	30 000	50 000	20 000	4000	3000	4000	.	.
	Merkle	0,025	30 000	60 000	5 000	55 000	55 000	12 000	10 000	10 000	7500	.	.
Vers. II Einsaat 1/40000 Öse	Lydorf	0,025	∞	∞	2 700	∞	∞	∞	11 000	180	60	.	.
	Geppert	0,025	2 000	∞	5 000	∞	∞	∞	∞	2500	11 000	.	.
	Zemborski	0,025	∞	∞	4 500	∞	∞	∞	14 000	4000	2500	.	.
Vers. III Einsaat 1/100 000 Öse	Ohlig II	0,012	13 000	70 000	37 000	.	10 000	0	0	0	0	0	0
	"	0,005			53 000	.	22 000	0	0	0	0	0	600
	Zemborski	0,012	18 000	86 000	13 000	.	27 000	47 000	35 000	16 000	16 000	17 000	6000
	"	0,005			15 000	.	30 000	39 000	53 000	58 000	56 000	44 000	50 000
	Ty 234	0,012	5 400	48 000	12 000	.	60	25	70	37	30	40	0
	"	0,005			47 000	.	18 000	2400	540	216	140	68	4
Vers. IV Einsaat 1/100 000 Öse	Hör	0,012	7 600	∞	280	.	20 000	20 000	5300	120	27	8	60
	"	0,005			20 000	.	40 000	48 000	∞	∞	50 000	10 000	6000
	Lydorf	0,012	9 700	∞	26 000	.	41 000	39 000	900	280	100	330	970
	"	0,005			∞	.	16 000	38 000	40 000	31 000	33 000	∞	∞
	Geppert	0,012	13 000	∞	10 000	.	53 000	56 000	23 000	3900	3900	28 000	5300
	"	0,005			∞	.	42 000	44 000	59 000	∞	41 000	47 000	∞

Technik: In allen Versuchen wurde dasselbe spezifische Serum (bakterizides Kaninchenserum 55) benutzt.

Als Komplement diente Meerschweinchenserum.

Je 0,5 der betreffenden Serumverdünnung wurden in Reagenzröhrchen gefüllt und dazu 2 Tropfen der Kulturaufschwemmung und 1 oder 2 Tropfen der Komplementverdünnung getropft.

Als Verdünnungsflüssigkeit wurde stets eine mit Kochsalzlösung im Verhältnis 1:6 verdünnte Bouillon benutzt.

Nach 3½—4 Stunden wurde flüssige Gelatine aufgefüllt und der ganze Inhalt der Reagenzröhrchen zu Platten ausgegossen, die nach 2 Tagen gezählt wurden.

[1]) Die Protokolle der Tabellen I und III sind in der Sitzung nur auszugsweise mitgeteilt worden.

fand er unter seinen Stämmen zwei hochgradig empfindliche und 5 stark serumfeste, während die übrigen 52 Kulturen in der Mitte standen. Dabei spielt es keine Rolle, mit welchem Serum die Prüfung vorgenommen wurde. Die empfindlichen Stämme waren stets empfindlich, die festen Stämme stets fest, auch wenn ein mit einem solchen festen Stamme gewonnenes Serum benutzt wurde. Der Autor hat hauptsächlich Patientensera, daneben aber auch eine Anzahl Kaninchenimmunsera benutzt.

Herr Dr. Schlemmer war so freundlich, uns einige seiner Stämme zu überlassen, und zwar gerade solche, die in hohem Grade serumfest oder in hohem Grade serumempfindlich waren. Alle Stämme, über die wir nachstehend berichten, stammen übrigens von Bazillenträgern.

Bei unseren im Kaiserlichen Gesundheitsamt ausgeführten Versuchen ergab sich zunächst, daß, trotzdem zwischen Schlemmers und unseren Untersuchungen eine längere Zeit verflossen war (alle Stämme waren bei Beginn unserer Untersuchung bereits länger als ein Jahr auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet), dennoch das Verhalten der Kulturen dem Immunserum gegenüber sich grundsätzlich nicht geändert hatte. Auch gegen unser Serum (hochwertiges Kaninchenserum, das mit einem heterologen Stamm gewonnen war) zeigten sich die serumfesten Stämme Schlemmers fest und die serumempfindlichen empfindlich.

Unsere Technik wich in mancher Hinsicht von der Schlemmers ab. Wir haben die Serumverdünnung sehr viel weiter getrieben, wahrscheinlich auch hochwertigere Sera benutzt als Schlemmer. Während dieser Autor in der Regel nur mit Verdünnungen bis 1:6000 arbeitete, wobei er bemerkt, daß die Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen sich gerade in den Röhrchen sehr gut zeigen, die relativ viel Serum enthalten, haben wir mit Verdünnungen des Immunserums bis zu 1:100000000 gearbeitet und auch in diesen starken Verdünnungen gelegentlich noch spezifische Baktericidie gesehen. Wir haben übrigens bei diesen und anderen Versuchen gefunden, daß die Grenzverdünnungen, bei denen noch Ausschläge im Plattenversuch stattfinden, von der Größe der Einsaat abhängig sind. Es scheint, daß wenigstens annähernd (entsprechend den bekannten Versuchen von Scheller mit hämolytischen Ambozeptoren), die wirksamen Immunserummengen parallel mit den verwendeten Bakterienmengen gehen; daher kann man bei kleiner Einsaat die Serumverdünnungen recht weit treiben. Wir haben bei unseren Typhusversuchen in der Regel 1/40000 oder 1/100000 Oese als Einsaat genommen und dabei meist Ausschläge bis zu Verdünnungen des Immunserums von 1:1000000, öfter sogar von 1:100000000 bekommen. Bei kleiner Einsaat und wenig Komplement tritt dann auch das Neißer-Wechsbergsche Phänomen noch in relativ hohen Verdünnungen ein. Aus diesen quantitativen Verhältnissen erklärt es sich auch ohne weiteres, daß man bei den gleichen Immunsera bei der Prüfung im Pfeifferschen Versuch, wo eine ganze Oese Kultur injiziert wird, sehr viel geringere Titer erhält.

1. Plattenversuche.

Nachstehend geben wir eine Anzahl von Plattenversuchen in einer Tabelle vereinigt.

Als äußerst serumempfindlich erwiesen sich nach unseren Versuchen die Schlemmerschen Stämme Hör und besonders Ohlig II sowie unser



Laboratoriumsstamm 234, als stark resistent Kaufmann, Merkle, Geppert, Zemborski, weniger resistent Lydorf.

Zur Beurteilung der Serumwirkung muß man die in den Röhrchen mit Immunserum erhaltenen Zahlen vor allem mit den fettgedruckten Zahlen der Spalte 3 der Kontrollen vergleichen, die den Einfluß zeigen, den das Komplement allein, ohne Immunserum, ausübt. Bekanntlich ist das Komplement (Meerschweinchenserum in unseren Versuchen) niemals gleichmäßig; man kann daher, wie Schlemmer mit Recht hervorhebt, nur solche Werte miteinander exakt vergleichen, die gleichzeitig mit demselben Komplement gewonnen sind. (Zu diesem Ergebnis haben auch die früheren Untersuchungen von Neufeld und Hüne geführt). Aus diesen und einigen weiteren Plattenversuchen geht zunächst, wie schon erwähnt, hervor, daß unsere Ergebnisse im allgemeinen mit denen von Schlemmer übereinstimmen. Weiterhin zeigt sich, daß die serumfesten Stämme anscheinend nur gegen den Immunkörper, aber nicht gegen die Komplementwirkung „fest" sind. Bisweilen besteht hierin sogar ein gewisser Gegensatz, indem serumfeste Stämme vom Komplement allein stärker abgetötet werden können als serumempfindliche (vgl. Kaufmann und Zemborski einerseits, Ohlig andrerseits im Versuch I und III).

Ferner zeigte sich, daß auch bei serumfesten Stämmen das Neißer-Wechsbergsche Phänomen der Komplementablenkung oft ziemlich stark zutage tritt, also auch hier zeigt sich eine gewisse Unabhängigkeit der einzelnen Funktionen des Immunserums voneinander. Die Stärke der Komplementablenkung geht mit der Stärke der Baktericidie zum mindesten nicht immer parallel.

2. Phagocytose.

Die Prüfung der Phagocytose in Vitro ergab, daß die Empfindlichkeit der einzelnen Stämme hier ganz anders ist als im baktericiden Plattenversuch. Wie aus der nachstehenden Tabelle hervorgeht, ist gerade der serumfeste Stamm Kaufmann sehr empfindlich gegen die Tropinwirkung des Serums, während der empfindlichste Stamm Ohlig im Phagocytoseversuch überhaupt nicht merklich beeinflußt wird.

Tabelle II.
Phagocytose in vitro.

Stämme	Serummengen		
	0,01	0,001	0,0001
Hör	++	++	++
Ohlig II	—	—	—
Kaufmann	++	++	+
Lydorf	+	+	+

3. Agglutination. Beweglichkeit.

Während die übrigen Stämme, sowohl serumfeste wie empfindliche, von unseren Sera, ohne erhebliche Differenzen zu zeigen, gut agglutiniert wurden, bildet der soeben genannte Stamm Ohlig (Ohlig II nach Schlemmers Bezeichnung) auch hier eine sehr merkwürdige Ausnahme. Der Stamm wurde



von einem spezifischen Eselserum, das andere Typhusstämme bis zu Verdünnungen von 1:5000 bis 1: 10000 agglutinierte, auch in der Verdünnung 1:100 nicht beeinflußt, sowohl wenn die Prüfung aus der Agarkultur als wenn sie aus der Bouillonkultur geschah. Nur wenn man, wie kürzlich von einem Autor empfohlen wurde, zur Agglutination eine bei Zimmertemperatur gewachsene Agarkultur benutzte, trat wenigstens bis 1:200 schwache Agglutination ein. Erwähnt sei, daß der Stamm Ohlig durch andere Immunsera, nämlich Paratyphus A und B-, Shiga-, Flexner-, Gärtner-, Paracolisera nicht agglutiniert wurde. Wir haben mit diesem Stamm Ohlig ein Kaninchenserum hergestellt, dasselbe agglutinierte andere Stämme bis 1:1000 bzw. 1:2000 den eigenen Stamm nur bis zu 1:200 schwach (in 24 Stunden). Dieser Stamm Ohlig ist aber gerade derjenige, der im Plattenversuch am stärksten beeinflußt wurde.

Derselbe Stamm hatte noch eine weitere merkwürdige Eigenschaft, er war nämlich außerordentlich schlecht beweglich. Auf verschiedenen Agarsorten, auf denen andere Typhusstämme sehr gut beweglich waren, blieb er teils völlig unbeweglich, teils zeigte sich, wenigstens bei Entnahmen aus dem Kondenswasser eine schwache, aber deutliche Eigenbewegung. Etwas besser, aber auch nicht regelmäßig vorhanden, war die Beweglichkeit in Bouillonkulturen.

In allen chemischen Proben gab dieser Stamm Ohlig die Reaktionen des Typhusbazillus; der Pfeiffersche Versuch ließ sich der mangelnden Virulenz wegen nicht ausführen. Da der Stamm Antikörper für andere Typhusstämme auslöste, und zudem im Plattenversuch extrem stark beeinflußt wurde, muß man ihn wohl für einen echten Typhus halten. Immerhin wird dieser Stamm weiter geprüft werden.

4. Pfeifferscher Versuch.

In der Mehrzahl der Versuche wurde dasselbe Kaninchenserum (55) wie in den mitgeteilten Plattenversuchen benutzt.

Die Ergebnisse, die wir bei Prüfung der serumfesten Stämme im Pfeifferschen Versuch erhielten, waren etwas unregelmäßig, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht; unser Laboratoriumsstamm Annemarie (den wir im Plattenversuch bisher nicht geprüft haben) lieferte dagegen, wie die letzte Reihe der Tabelle zeigt, regelmäßigere Resultate (s. Tab. III).

Die Unregelmäßigkeiten der Ergebnisse bedürfen zur Erklärung wohl noch weiterer Untersuchungen; sie beruhen jedenfalls nicht ausschließlich auf Virulenzschwankungen, da sie auch dann auftraten, wenn wir einer Anzahl von Tieren gleichzeitig von derselben Agarkultur aus einspritzten; dies war gerade bei den besonders unregelmäßig verlaufenen Versuchen mit den Stämmen Geppert und Zemborski der Fall. Uebrigens war die Virulenz der serumfesten Stämme meist recht gut; die kleinste tödliche Dosis lag zwischen $^1/_3$ und $^1/_{40}$ Oese für die verschiedenen Stämme.

Jedenfalls geht aus unseren Versuchen hervor, daß die im Plattenversuch hochgradig resistenten Stämme im Pfeifferschen Versuch keineswegs völlig serumfest sind.

5. Mutation.

Bei einigen vorläufigen Versuchen über Mutationsformen gelang es uns stets, die Stämme in der von Bärthlein beschriebenen Weise in 2 ver-



Tabelle III.
Pfeiffersche Versuche.
Je 1 Oese Typhusbazillen intraperitoneal.

Stamm	Kontrollen ohne Serum	Kontrollen mit 0,1 Norm. Ser.	Benutztes Serum	Spezifisches Serum 0,001	0,003	0,005	0,01	0,03
Kaufmann	+++	0 +++	Kan. 54 Kan. 55	00 00 +	0 .	. 0 ++	. 000	. 000
Merkle	+++ ++	0++++	54 55	+ 0000 ++	++ .	. 000 ++	+ 0	0 .
Lydorf	+	++	54 55	. $+^2$	+ .	0 .	. .	. .
Geppert	+++	0 +	54 55	0 000 ++	0 .	. 00 +++	. .	. .
Zemborski	+	+++	55	00	0	0	000 ++	000 ++
Annemarie	+	++	55	00 $+^2+^2$	0	00 $+^2$	0000	0000

\+ Meerschweinchen in 24 Stunden eingegangen (Befund: Typhus)
$+^2$,, ,, 48 ,, ,, ,, ,,
0 ,, überlebt.

Virulenz: Kaufmann $^1/_{20}$ Oese
Merkle $^1/_{40}$ Oese
Lydorf 1 Oese (Grenze nicht bestimmt)
Geppert $^1/_{40}$ Oese (in 2 Tagen)
Zemborski $^1/_3$ Oese
Annemarie $^1/_{10}$ Oese

schiedene Formen zu zerlegen. Von besonderem Interesse ist dabei, daß wir in jedem Falle zwischen den beiden Mutationsformen eines Stammes agglutinatorische Unterschiede fanden, und zwar agglutinierte stets diejenige Form am besten, die auf der Agaroberfläche am typischsten wuchs. Die Unterschiede in der Agglutinierbarkeit waren bisweilen sehr stark, so daß eine Mutationsform sehr gut, die andere sehr schlecht agglutiniert wurde; in anderen Fällen waren die Unterschiede nur gering. Auch bei dem oben erwähnten inagglutinabeln Stamme Ohlig fanden sich wenigstens insofern Unterschiede, als die eine Mutationsform sich gänzlich negativ verhielt, während die andere in Verdünnungen von 1:200 und 500 nach 24 Stunden wenigstens eine Andeutung von Agglutination zeigte.

Auch im baktericiden Plattenversuch zeigten sich gewisse Unterschiede zwischen den Mutationsformen desselben Stammes. Während dieselben bei dem Stamm Geppert nicht auffallend waren, wurden von den Stämmen Ohlig, Hör, Zemborski eine Mutationsform deutlich stärker im Plattenversuch beeinflußt, als die andere Form; bei Wiederholung des Versuchs ergaben sich die gleichen Differenzen. Besonders auffallend war aber das Verhalten bei Stamm Kaufmann: hier wurde die eine Mutationsform durch Komplement allein außerordentlich stark abgetötet, viel stärker als die



gleichzeitig geprüften serumempfindlichen Stämme, während die andere Mutationsform nur sehr wenig beeinflußt wurde. Eine Wiederholung des Versuchs gab dasselbe Resultat.

Aus allen unseren Versuchen geht wohl hervor, daß bei der Serumfestigkeit der Typhusbazillen recht verwickelte Verhältnisse vorliegen, die eines weiteren Studiums wert sind.

Diskussion:

Seligmann (Berlin): Ich möchte eine kurze Frage an den Herrn Vortragenden richten. Er hat mitgeteilt, daß seine mutierten — ich gebrauche das Wort nur formal, nicht dem Sinne nach — Typhuskolonien zum Teil die Agglutinierbarkeit für Typhusserum in erheblichem Maße verloren haben. Nun haben Sobernheim und ich seiner Zeit bei Paratyphuskulturen, wohl zum ersten mal in neuerer Zeit, diese verschiedenen Kolonientypen beschrieben und festgestellt, daß die abweichenden Formen nicht nur an Agglutinierbarkeit für ihr homologes Serum abgenommen, sondern gleichzeitig eine früher nicht vorhandene Agglutinierbarkeit für heterologe Sera (Gärtnersera) angenommen haben. Hat Herr Neufeld seine Typhusstämme vielleicht daraufhin untersucht, ob auch sie zugleich mit dem Verlust ihrer Typhusagglutinierbarkeit für andersartige Immunsera agglutinabel geworden sind?

Neufeld (Berlin): Solche Versuche sind bisher nicht gemacht worden.

Händel (Lichterfelde): Die Anfrage des Herrn Seligmann kann ich in gewisser Hinsicht für Paratyphusstämme beantworten. Die Paratyphuskulturen mutieren nicht alle gleich, sondern man kann dabei verschiedene Mutationsgruppen unterscheiden. Eine Gruppe mutiert ähnlich wie Typhus, eine andere ähnlich wie Gärtnerstämme. In gewisser Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von Sobernheim und Seligmann zeigen die typhusähnlich mutierenden Paratyphuskulturen eine hohe Mitagglutination mit Typhus-die Gärtner ähnlich mutierenden Stämme mit Gärtnerseris.

III. E. Friedberger (Berlin):

Ueber Anaphylaxie.

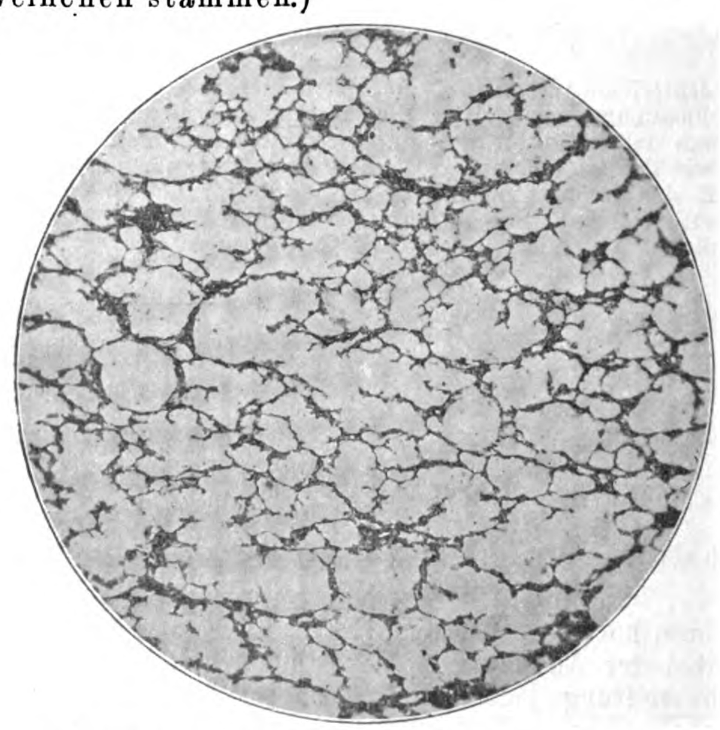
I. Das Verhalten der Lunge bei Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung.

Vor 2 Jahren haben die Herren Biedl und Kraus an dieser Stelle behauptet, daß bei der Anaphylaxie die Lunge regelmäßig gebläht, bei der Anaphylatoxinvergiftung jedoch kollabiert sei, wie bei der Erstickung. Ich konnte alsbald (Verhandl. 1910) die Unrichtigkeit dieser Angabe dartun.

Die Autoren erkannten dann späterhin das Volumen pulmonum auctum auch bei der Anaphylatoxinvergiftung an. Es soll aber nach ihren Angaben nicht durch ein Lungenemphysem, sondern durch Oedem bedingt sein. Ich konnte bald danach Mikrophotogramme veröffentlichen, Zeitschr. für Immunität, Bd. 8, aus denen sich die Unrichtigkeit auch dieser Angabe von Biedl und Kraus ergab. Doch demonstrierten Biedl und Kraus im vorigen Jahr (Verhandl. 1911) an dieser Stelle wiederum Mikrophotogramme, die ihre Ansicht insofern zu stützen schienen, und gegen die meinige sprachen, als in ihren Demonstrationen bei der Anaphylatoxinvergiftung tatsächlich ein Oedem bei der Anaphylaxie präparierter Tiere nur



ein Emphysem zu beobachten war. Sie schlossen aus dem verschiedenen Verhalten der Lunge, auf eine prinzipielle Verschiedenheit zwischen Anaphylaxie einerseits und Anaphylatoxinvergiftung andererseits. Diese scheinbare Differenz beruht auf einer Unzulänglichkeit der Versuchsanordnung seitens Biedl und Kraus und die daraus gezogenen Schlüsse sind deshalb hinfällig. Wenn man nämlich wie das bei derartigen vergleichenden Versuchen selbstverständlich sein muß, gleiche Flüssigkeitsvolumina und gleiche Suspensionsflüssigkeit verwendet, so treten die von Biedl und Kraus behaupteten Differenzen bei beiden Arten der anaphylaktischen Vergiftung, nicht mehr hervor. Man sieht dann je nach der Dosis und dem Verlauf sowohl Oedem wie Emphysem etwa gleich häufig bei der aktiven Anaphylaxie und bei der Anaphylatoxinvergiftung. Diese schon früher von mir erhobenen Befunde sind noch einmal in meinem Laboratorium an über 100 Lungen von Herrn Dr. Kumagai nachgeprüft worden (mikroskopische Projektion einer Reihe von Lungenschnitten, aktive Anaphylaxie, Anaphylatoxinvergiftung etc. Von diesen werden hier nur die beiden folgenden veröffentlicht, die beide vom aktiv anaphylaktischen Meerschweinchen stammen.)



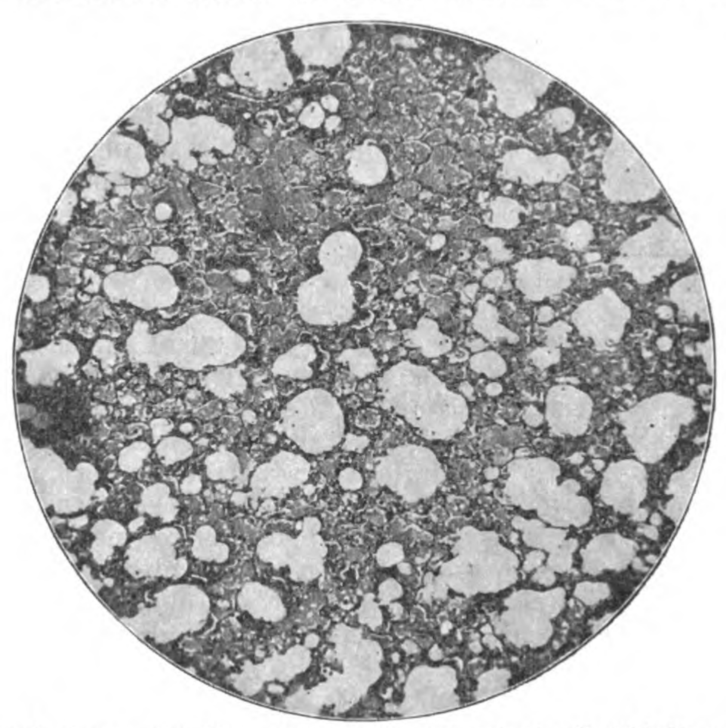
Schnitt durch Lunge von Meerschweinchen, präpariert mit 0,02 Hammelserum, Reinjektion nach 15 Tagen mit 0,005 Hammelserum (einfach tödl. Dosis) **in 1,0 physiol. Kochsalzlösung.** Lungenemphysem.

Die Angaben von Biedl und Kraus bezüglich der Lunge müssen als unrichtig fallen gelassen werden, ebenso die von ihnen daraus gezogenen Schlüsse.

II. Die Spezifizität der Antianaphylaxie.

Ich habe die von Besredka sog. „Antianaphylaxie“ als eine Anaphylaxie refracta dosi als durch partielle Antikörperabsättigung bedingt

erklärt (Zeitschr. f. Immunit. Bd. II). Diese Antikörperabsättigung ist streng spezifisch, wie Scott, namentlich aber unter meiner Leitung Joachimoglu gefunden hat, dessen Versuche erst jüngst wieder durch Baecher bestätigt wurden. Beim Kaninchen ist die Antianaphylaxie zu Unrecht von Friedemann bestritten worden. Sie besteht hier in



Schnitt durch Lunge von Meerschweinchen, präpariert mit 0,02 Hammelserum, Reinjektion nach 15 Tagen mit 0,025 Hammelserum (einfach tödl. Dosis) **in 4,0 Normalmeerschweinchenserum.** Lungenoedem.

gleicher Weise und verläuft mit der gleichen Gesetzmäßigkeit wie beim Meerschweinchen, wie das meine früheren Untersuchungen und die mit Mita (XVIII Mitt. Zeitschrift für Immunität, Bd. X) dartun. Neuerdings leugnet Bessau (Centralblatt für Bakteriologie 1911) die Spezifizität der Antianaphylaxie und verwirft dem entsprechend auch die von mir aufgestellte Theorie über ihre Entstehung. Eine eigentliche andere Erklärung für ihr Zustandekommen gibt er nicht; merkwürdigerweise nimmt er an, daß der Grad der Antianaphylaxie von der Schwere der Symptome bei der voraufgegangenen untertödlichen Anaphylaxie abhängig sei. Das ist nun a priori unrichtig, wie wohl jeder, der auf diesem Gebiet größere Erfahrungen besitzt, bestätigen kann. Es ist ja ein leichtes, durch intraperitoneale Reinjektion des Antigens durch wiederholte Injektion nach Besredkal oder durch die langsame Injektion nach der Methode von Mita und mir, jegliche einigermaßen schweren Symptome zu vermeiden, und doch eine Antianaphylaxie vollkommenen Grades zu erzielen, während man sehr häufig bei einer mit unzweckmäßiger Technik d. h. mit zu kleinen Dosen ausgeführten intravenösen Reinjektion die schwersten Symptome und doch nur eine sehr geringgradige Antianaphylaxie erzielen kann.

Was nun die Spezifizität der Antianaphylaxie anlangt, so hatte bereits geraume Zeit vordem die Versuche von Bessau erschienen,



Szymanowski in meinem Laboratorium bei einer entsprechenden Versuchsanordnung diametral entgegengesetzte Resultate erhalten und damit eine Bestätigung meiner früheren Befunde. Die allen übrigen Literaturangaben widersprechenden Befunde von Bessau veranlaßten mich aber, die Frage einer erneuten eingehenden Prüfung unterziehen zu lassen. Diese Versuche wurden in meinem Laboratorium mit den Herren Dr. Kumagai, Odaira und Lurà ausgeführt, und die Resultate ergaben wiederum übereinstimmend die strenge Spezifizität der Antianaphylaxie. Die Versuche gaben aber zugleich in weiterem Verfolg früherer Resultate eine Aufklärung darüber, wieso Bessau zu den abweichenden Schlüssen gelangen konnte. Sie beruhen auf einer ungenügenden Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse bei der Antianaphylaxie und weiter wohl in einer unzweckmäßigen Technik bei der Antianaphylaktisierung der Tiere. Wie ich nämlich bereits in meinem Sammelreferat über Anaphylaxie im vorigen Jahre betont habe (Med. Klinik herausgeg. v. Klemperer und v. Leyden, Ergänzungsbd. 1911) und wie auch Sachs hervorhebt, sind bei der Antianaphylaxie zwei teilweise ineinander übergreifende Zustände streng auseinanderzuhalten. Es ist das erstens eine durch die Behandlung hervorgerufene allgemeine unspezifische Resistenz sehr geringen Grades und zweitens die echte spezifische Antianaphylaxie. Wir haben hier eine gewisse Analogie zu dem bekannten Pfeifferschen Phänomen, bei dem ja auch die strenge hochgradige Spezifizität durch eine allgemeine Resistenz bis zu einem gewissen Grad verdeckt sein kann. Wenn man also bei den Antianaphylaxieversuchen die quantitativen Verhältnisse nicht genügend berücksichtigt, so kann vielleicht die strenge weitgehende

Aktive simultane Präparierung mit je 0,02 Serum von Hammel und Pferd.

A.: 10 Tage nach Präparierung.

No.	Gewicht	Reinjektion (Antianaphylaktisierung)	Resultat	II. Reinjektion nach 5 Stunden bzw. 18 Stund.	Mult. d. Dos. let.	Resultat
31	310	0,01 Hammelser.	schwere A. lebt	2,0 Pferdeser.	2	**tot in 5′**
33	250	0,015 ,,	,, ,, ,,	2,0 ,,	2	**tot in 3′**
42	210	0,02 ,,	,, ,, ,,			
56	210	0,03 ,,	tot in 5′			
51	280	0,2 Pferdeser.	schwere A. lebt	0,03 Hammelser.	1	**schw. A. lebt**
30	280	0,4 ,,	,, ,, ,,	0,05 ,,	1½	,, ,, ,,
35	250	0,6 ,,	,, ,, ,,	0,1 ,,	3	,, ,, ,,
49	250	1,0 ,,	tot in 7′			

B.: 17 Tage nach der Präparierung.

No.	Gewicht	Reinjektion (Antianaphylaktisierung)	Resultat	II. Reinjektion nach 5 Stunden bzw. 18 Stund.	Mult. d. Dos. let.	Resultat
36	220	0,01 Hammelser.	leichte A.	0,2 Pferdeser.	2	tot in 8′
40	220	0,01 ,,	schwere A.	0,1 ,,	1	schw. A. lebt
28	280	0,03 ,,	tot in 5′			
41	220	0,01 Pferdeser.	leichte A.	0,1 Hammelser.	3	tot in 5′
45	200	0,025 ,,	schwere A.	0,04 ,,	1½	Anaph. lebt
52	270	0,05 ,,	tot in 1 Std.			
38	270	0,1 ,,	tot in 5′			



Spezifizität der Antianaphylaxie übersehen werden. Ich demonstriere Ihnen nunmehr einige Tabellen über unsere Versuche:

1. Antianaphylaktisierung bei **aktiv** mit mehreren Antigenen präparierten Tieren.

Wir ersehen aus dieser Tabelle, daß zwar eine gewisse Resistenz gegenüber einem heterologen Antigen im Zustand der homologen Antianaphylaxie vorhanden ist, dieser Schutz versagt aber bereits gegenüber einem geringen Multiplum der sonst tödlichen Dosis, während bei richtig antianaphylaktisierten Tieren von homologen Antigen, wie auch die folgenden Versuche beweisen, sehr große Multipla der Antigendosis vertragen werden.

2. Noch eklatanter sind die Resultate bei mit zwei Antigenen **passiv** präparierten Tieren.

Simultane passive Präparierung mit je 0,4 Antimensch- und Antihammel-, Kaninchenser. intraperitonal.

i. v. tödliche Dosis nach 24 Stunden Hammelser. 0,05
Menschenser. 0,025

No.	Antianaphylaktisier. mit der i. v. tödl. dosis i. p.	II. Reinjektion intravenös	Multipl.	Resultat
210	0,05 Hammelser.	2,0 Hammelser.	40	keine Sympt.
212	0,05 „	5,0 „	100	keine Sympt.
208	0,05 „	0,05 Menschenser.	2	Anaph.
209	0,05 „	0,125 „	5	Anaph.
215	0,05 „	0,125 „	5	typ. tot in 7′
218	0,05 „	0,25 „	10	typ. tot in 6′

Analog verlief ein Versuch mit umgekehrter Reihenfolge (Antianaph. Mensch; Reinjekt. Hammel).

Uebersichtstabelle.

Antianaphylaktisierung	Hammelserum	Hammelserum	Menschenserum	Menschenserum
2. Reinjekt.	Hammelserum	Menschenserum	Menschenserum	Hammelserum
Schutzkraft	> 100	2—5	> 50	3

Auch hier ist die Spezifizität teilweise verdeckt, aber die Differenz bezüglich der Schutzkraft gegenüber dem homologen und dem heterologen Antigen ist eine derartig enorme, daß auch bei nur einigermaßener Einhaltung der quantitativen Bedingungen und genauer Auswertung die Spezifizität der Antianaphylaxie glänzend hervortritt.

3. Weiterhin haben wir das Verhältnis des Peptonschutzes (der Peptonresistenz) zur Antianaphylaxie untersuch. Bekanntlich nehmen Biedl und Kraus eine Wesensgleichheit der Anaphylaxie und Peptonvergiftung an, weil neben der Aehnlichkeit der Symptome nach ihren Untersuchungen antianaphylaktisierte Tiere gegenüber der tödlichen Dosis von Pepton geschützt sein sollen und umgekehrt. Handelt es sich aber dabei wirklich um ein Uebergreifen im Sinne der Identität der beiden Prozesse, oder auch



hier nur um die Interferenz einer gewissen allgemeinen Resistenz? Das zeigt Ihnen für die aktive und passive Anaphylaxie die folgende Tabelle.

Peptonschutz.

A.: bei mit Hammelserum aktiv präparierten Tieren.
Tödliche Reinjekt. Dos. am. 16. Tag 0,025 Hammelserum intravenös.
Bestimmung der tödlichen Dosis. A.: bei mit Pepton antianaphylaktisierten Tieren.

No.	Pept. Dos. a XVI. Tag pro 100 gr. Tier	Hammelserum n. 24 Std.	Multipl. d. Dos. Pep.	Resultat
60	0,03	0,025	1	leichte A.
61	0,03	0,05	2	leichte A.
49	0,03	0,075	3	tot in 5′
48	0,03	0,075	3	tot in 3′

B.: bei mit 0,5 Antihammelserum passiv präparierten Tieren
tödl. Dos. Hammelserum nach 24 Std. 0,005 i. v.
für Normaltier tödl. Dos. Pepton 0,15 i. v.

I. Bestimmung d. tödl. Dos. Hammelserum bei passiv praep. und mit Hammelserum antianaphylaktisierten (0,005 intrap.) Tieren

No.	Gewicht	Hammelserum	Multipl.	Resultat
109	220	0,25	50	leichte A. lebt
106	160	0,5	100	schwere A. lebt
112	230	1,0	200	schwere A. lebt

II. Bestimmung d. tödl. Dosis Pepton bei m. Hammelserum antianaphylaktisierten Tieren.

No.	Gewicht	Pepton	Multipl.	Resultat
97	190	0,225	1,5	schwere A. lebt
95	180	0,225	1,5	tot in 13′
101	190	0,3	2	tot in 3′

Analog verlief auch hier ein Versuch mit umgekehrter Reihenfolge.

Uebersichtstabelle.

Antianaphylaktisierung	Hammelserum	Hammelserum	Pepton	Pepton
2. Reinjekt.	Hammelserum	Pepton	Pepton	Hammelserum
Schutzkraft	> 200	1	1	4



Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß bezüglich der Antianaphylaxie ein Schutz, selbst gegen das 200fache der tödlichen Dosis besteht, während der Peptonschutz schon bei einem geringen Multiplum der tödlichen Dosis vollkommen zurücktritt. Wir dürfen diese allgemeine Resistenz also nicht länger als einen Beweis für die Wesensgleichheit beider Vergiftungsarten betrachten. Sie wurde zu unrecht angenommen, weil auch hier die geringfügige Resistenz den allgemeinen Schutz vorgetäuscht hat, der bei quantitativer Versuchsanordnung keine Rolle spielt.

3. Schließlich haben wir noch die Beziehungen der Antianaphyloxie zur Anaphylatoxinvergiftung und zur Vergiftung durch βImidazolyläthylamin (β. J.) untersucht. Was speziell das Anaphylatoxin anlangt, so nimmt auch hier Bessau an, daß durch das Anaphylatoxin Antianaphylaxie erzeugt werde. Und er hat dies sogar als ein Kriterium für das Anaphylatoxin im Gegensatz zum Toxin und Endotoxin angesehen, wiederum zu Unrecht, denn auch hier ist dieser Schutz nur durch eine bei der Anaphylatoxinvergiftung mit untertödlichen Dosis eintretende sehr geringfügige allgemeine Resistenz vorgetäuscht worden. Das zeigt die folgende Tabelle mit Anaphylatoxin aus Prodigiosus und Typhusbazillen sowie β. J.

Antianaphylaktisierung mit Anaphylatoxin (A. T.) u. β. J.[1])

Vorbehandlung	Antianaphylaktisierung	Reinjektion	Multipl.	Resultat
Hammelserum	Hammelserum	Hammelserum	25	keine Sympt. lebt
„	„	A. T. aus Prod.	1	tot in 4 Std.
„	„	β J.	1	tot in 3′
„	A. T. aus Prodig.	Hammelserum	1	tot in 4′
—	A. T. Prod.	A. T. Prod.	1	tot in 3′
—	A. T. Prod.	A. T. Typh.	1	tot in 3′
—	A. T. Prod.	β J.	1	tot in 3′
—	β J.	β J.	1	tot in 10′

[1]) β. J. = β Imidazolylaethylamin.

Fassen wir die Resultate aller dieser Versuche zusammen, so ergibt sich in Bestätigung der früheren Angaben wiederum die vollkommene Spezifizität der Antianaphylaxie, wie sie neben einer allgemeinen unspezifischen Resistenz bei Einhaltung der quantitativen Versuchsbedingungen aufs Deutlichste hervortritt. Auch durch das Anaphylatoxin wird beim unpräparierten Tier allenfalls nur eine geringfügige Resistenz, keine Antianaphylaxie erzeugt.

III. Einfluß äußerer Faktoren auf die Wirksamkeit der Reinjektion bei der Anaphylaxie.

Da bei der Anaphylaxie kein fertiges Gift in den Organismus injiziert wird, sondern sich das Anaphylatoxin wenigstens beim aktiv und beim passiv präparierten Tier innerhalb des Körpers durch dessen vitale Funktionen

aus dem relativ ungiftigen Eiweiß bildet, so ist die tödliche Dosis durch eine Reihe von äußeren Umständen leicht beeinflußbar. Schon früher habe ich mit Mita im Anschluß an die Antianaphylaxieversuche Besredkas gezeigt, wie sehr die Dosis letalis variiert je nach der Schnelligkeit, mit der die intravenöse Injektion vorgenommen wird. Den Einfluß, den nun das **Volum der Reininjektionsflüssigkeit** auf die anaphylaktische Vergiftung hat, zeigt Ihnen die folgende Tabelle nach Versuchen mit Dr. Tassarva.

Einfluß des Volumen s. auf die tödliche Reinjektionsdosis bei mit Hammelserum präparierten Tieren.

A. Kontrollen.

No.	Gewicht	Dos. d. Hammelser. b. Reinjektion	Volumen ccm	Multipl.	Resultat
282	250	0,02	1,5	1	lebt schwere A.
321	230	0‘02	1,0	1	lebt
320	210	0,025	1,0	1	tot in 5′
291	200	0,025	1,0	1	tot in 3′
204	350	0,025	1,0	1	tot in 3′
316	255	0,03	1,5	1,2	tot in 3′
285	250	0,04	1,0	1,5	tot in 2′

B. Versuchstiere.

No.	Gewicht	Dos. d. Hammelser. b. Reinjektion	Volumen ccm	Multipl.	Resultat
287	260	0,025	4,0	1	lebt
284	205	0,025	4,0	1	lebt
318	260	0,03	4,5	1,2	lebt
306	260	0,04	4,0	1,5	lebt
315	250	0,05	4,0	2	lebt
308	230	0,07	4,0	3	lebt
300	210	0,08	4,0	3	lebt
290	250	0,1	4,0	4	tot in 4′
292	360	0,1	5,0	4	tot in 4′

Auch die **Temperatur des Tieres,** bei dem die Reinjektion erfolgt, ist von großem Einfluß. Wenn man das Tier vor der Reinjektion oder unmittelbar nachher stark abkühlt, so wird die tödliche Dosis und selbst ein geringes Multiplum leicht vertragen, weil offenbar bei der niedrigen Körpertemperatur die Reaktionen zwischen Antigen und Antikörper bedeutend träger verlaufen.

Schützender Einfluß der Kälte bei der aktiven Anaphylaxie.

Kontrollen.

Tier No.	Gewicht	Dos. pr. 200	Multipl. d. tötl. Dos.	Resultat
K 57	250	0,0025	1	leicht krank }
K 52	230	0,005	1	ohne Krämpfe erholt sich }
K 59	300	0,0075	1	akut tot
K 51	280	0,0075	1	„ „
K 58	300	0,0075	1	„ „
K 56	210	0,0075	1	„ „
K 60	280	0,01	1,3	„ „



mit Kälte vorher behandelt

Tier No.	Gewicht	Dos. pr. 200	Multipl. d. tödl. Dos.	Resultat
K 54	250	0,015	2	lebt
K 53	290	0,037	5	,,
K 47	280	0,053	7	akut tot
K 55	270	0,053	7	,, ,,
K 50	270	0,075	10	,, ,,
K 48	310	0,075	10	,, ,,
mit Kälte gleich nach der Injektion behandelt.				
K 49	270	0,0075	1	akut tot
K 46	250	0,0075	1	lebt
K 61	260	0,015	2	,,

Auch das **Körpergewicht des Tieres** ist auf die Höhe der tödlichen Dosis von Einfluß und die Dosis letalis geht keineswegs dem Körpergewicht streng proportional. Das zeigt die folgende Tabelle.

Aktive Anaphylaxie bei Tieren verschiedenen Gewichts, alle Tiere waren gleichmäßig 15 Tage zuvor mit je 0,02 ccm Hammelserum pro 100 g Tier subkutan präpariert.

	No.	Gewicht	Dos. f. Reinjektion pro 100 g	Resultat
190—220 g	K 117	220	0,001	lebt krank
	K 118	200	0,005	tot n. 4′
	K 119	200	0,005	tot n. 3′
	K 112	200	0,01	tot n. 4½′
	K 116	170	0,02	tot n. 20′
	K 103	180	0,03	tot n. 4′
270—390 g	K 106	390	0,001	lebt Krämpfe
	K 104	380	0,005	tot n. 6′
	K 109	380	0,005	tot n. 1′
	K 108	380	0,01	tot n. 1′
	K 105	320	0,02	tot n. 3′
	K 107	300	0,03	tot n. 3′
500—600 g	K 96	600	0,02	lebt
	K 100	550	0,05	,,
	K 100	550	0,1	,,
	K 103	570	0,5	tot n. 4′

IV. Zur Theorie der Anaphylatoxinbildung.

In jüngster Zeit hat die Auffassung der Anaphylaxie als einer Antigen Antikörperreaktion mit konsekutiver Komplementbindung und Abbau des Eiweißes von manchen Seiten Widerspruch erfahren. Man glaubte, die mannigfachen und verwickelten Erscheinungen der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung die Einheitlichkeit des Giftes zum Mindesten in der Wirkung ohne Rücksicht auf das benutzte Antigen nicht durch einen chemischen Abbau des letzteren erklären zu können, und fühlte sich zu einer

anderen Erklärungsmöglichkeit gedrängt, obwohl doch die eben erwähnte Auffassung durch zahlreiche gesicherte Tatsachen, deren Erörterung hier zu weit führen würde, wohl fundiert erscheint. Sachs und Ritz, die zuerst bei der Injektion von mit Kaolin digeriertem normalen Meerschweinchenserum krampfartige Symptome sahen, glaubten, in Analogie damit auch die Anaphylaxie bzw. die Anaphylatoxinbildung durch eine ähnliche Adsorptionswirkung, die das Meerschweinchenserum durch die Präzipitate oder die Bakterien erfahren soll, erklären zu können. Schon auf der vorjährigen Tagung habe ich in Gemeinschaft mit Szymanowski gezeigt, daß die scheinbare Giftwirkung des mit Kaolin behandelten Serums lediglich auf den im Serum zurückgebliebenen feinsten Kaolinpartikelchen beruht. Wenn man, nachdem das Serum bereits klar aussieht, weiter zentrifugiert, erhält man immer noch Bodensätze; aber wenn das Kaolin erst vollkommen ausgeschleudert ist, so bewirkt das damit digerierte Serum nicht einmal einen Temperatursturz. Ebenso wie gegenüber den Versuchen von Sachs und Ritz waren unsere Resultate gegenüber Versuchen von Bauer, der gleichfalls durch Behandlung von Serum mit Kaolin „Anaphylaxie ähnliche Symptome" gesehen haben will. Allen diesen Versuchen gegenüber und der weitgehenden Deutung, die sie von manchen Seiten erfahren haben, muß doch einmal nachdrücklich betont werden, daß auch in der ganzen Literatur nicht ein einziges Protokoll vorliegt, demzufolge bei Injektionen des kaolinisierten Serums akuter Tod, oder überhaupt Tod eingetreten ist, während wir bei der Anaphylatoxinbildung aus Eiweiß und speziell aus Bakterien bei geeigneten Mengenverhältnissen mit Leichtigkeit akuten Tod in 100% der Fälle erhalten. Irgend welche unbestimmten krampfartigen Symptome aber nach der Injektion von artgleichem Serum, das feste Partikel (Kaolin), sei es auch nur in geringen Mengen, enthält, haben bei einem so spasmophilen Tier, wie dem Meerschweinchen, natürlich keine Bedeutung.

Dörr behauptet nun allerdings in einem Aufsatz, der Anfang dieses Jahres in der Wiener klinischen Wochenschrift erschienen ist, durch Behandlung von Normalserum mit Kieselguhr „unter besonderen Bedingungen" akuten Tod bekommen zu haben. Welcher Art diese Bedingungen sind, ist auch aus den folgenden Arbeiten dieses Autors nicht ersichtlich. Nur einmal spricht Dörr davon, daß man die Kieselguhrwirkung verstärken kann, wenn man das Kieselguhr mit Eiweißlösung präpariert; das ist aber nichts weiter als eine Wiederholung der Versuche von Keyser und Wassermann, bei denen wie ich schon früher und auch andere gezeigt haben, allein das adsorbierte Antigen als Quelle des Gifts in Frage kommen kann. Jedenfalls ist es mir in Gemeinschaft mit Langer nicht gelungen, durch Behandlung von Normalserum mit Kieselguhr statt Kaolin unter den verschiedensten quantitativen Verhältnissen wiederum auch nur eine Temperaturbeeinflussung zu erzielen. Es besteht also für diese physikalische Adsorptionstheorie, durch die Dörr sogar die Giftwirkung des β-Imidazolyläthylamins erklären will, auch nicht der Schatten eines Beweises, während andererseits die Theorie des Eiweißabbaus durch eine große Reihe von Tatsachen, die ich schon an anderer Stelle zusammengestellt habe, aufs beste gestützt ist. Dörr hat nun speziell zur Widerlegung dieser Auffassung noch eine Reihe von Einwänden vor-



gebracht. Zunächst leugnet er die ausschlaggebende Rolle des Komplementes bei der Anaphylaxie. Die Versuche, in denen sich aus Bakterien mit inaktivem Serum Anaphylatoxin bilden soll, haben, wie ich schon an anderer Stelle gezeigt habe, keine Bedeutung, da hier Bakteriensubstanzen in Mengen in die Suspensionsflüssigkeit hineingehen, die an sich akut tötend wirken können. Aus bedeutend kleineren Bakterienmengen, die allein nicht akut töten, gelingt die Anaphylaxinbildung durch nichts anderes, als durch normales Meerschweinchenserum. Weitere Einwände betreffen die Versuche von Friedberger und Hartoch über die schützende Wirkung konzentrierter Salzlösung. Hier hat schon Ritz den Einwand gemacht, daß das Salz nicht nur Hypertonie erzeugt, sondern vielleicht durch andere rein pharmakologische Momente wirkt. Was diese Salzversuche, deren leichtes Gelingen im Gegensatz zu Biedl und Kraus bei geeigneter Technik Ritz noch besonders hervorgehoben hat, anlangt, so kann meines Erachtens über ihre Deutung kein Zweifel bestehen, nachdem ich vor einiger Zeit gezeigt habe (Berl. Mikrobiol. Gesellschaft), daß auch in Vitro die Anaphylatoxinbildung ausbleibt, wenn man die Reaktion durch Zusatz von Kochsalz in einem auch nur in geringem Grade hypertonischen Medium vor sich gehen läßt. Es ist aber klar, daß in Vitro ein anderer Einfluß des Salzes als der hemmende auf die Komplementbindung nicht gut angenommen werden kann. Auch die Versuche von Löffler jun., von v. Dungern und Hirschfeld und namentlich von Hartoch und Scirenski sprechen durchaus für die Mitbeteiligung des Komplementes. (Namentlich die Letzteren, bei denen schon mit Rücksicht auf die zeitlichen Verhältnisse eine Resistenz oder Antianaphylaxie nicht zur Erklärung herangezogen werden kann.)

Auch die neueren Versuche von Dörr, in denen er vermeintlich primäre giftige Antiserumwirkung ohne Komplement erzeugt hat, und Mischungen von Antigen und Antiserum ohne Komplement giftig sah, sprechen nicht gegen die Mitbeteiligung des Komplementes, da ja dessen Intervention im Organismus nach wie vor statt hat. Gegenüber dem Einwand, daß kein Parallelismus zwischen Schwere der Symptome und Grad des Komplementschwundes besteht. habe ich schon früher darauf hingewiesen, daß hierfür die doppelte Funktion des Serums, die der Giftbildung und weiterer Entgiftung verantwortlich zu machen ist. Darnach ist es ohne weiteres klar, daß der Komplementschwund nicht der Stärke der Symptome parallel gehen kann, sondern gerade bei sehr schnell akut tötenden Fällen geringer sein muß als bei protrahiertem Verlauf. Es hieße also fast den Tatsachen Gewalt antun, wenn man auf Grund aller dieser Momente die ausschlaggebende Rolle des Komplementes (das heißt jener Substanz im Normalserum, der wir wegen ihrer bestimmten Eigenschaften diese Namen zulegen), für die Anaphylatoxinbildung bestreiten wollte.

Auch die weiteren Momente, die gegen die Theorie eines Eiweißabbaus bei der Anaphylaxie ins Feld geführt werden, lassen sich leicht widerlegen. Zum Teil beruhen sie nur auf der ungenügenden Erkenntnis der einschlägigen Tatsachen. Die immer wiederkehrende Behauptung, daß die Anaphylaxie momentan eintrete, während sich das Anaphylatoxin erst in 24 Stunden bilde, ist längst dadurch widerlegt, daß ich bereits in meiner vierten Mitteilung über akute Anaphylatoxinbildung berichten konnte, und daß diese regelmäßig eintritt, wenn die Bedingungen des Reagenzglases insoweit denen des Organismus angepaßt werden, daß alle Komponenten vorher auf



Körpertemperatur gebracht werden. Wenn man den Einwand erhebt, daß alle sonstigen Verdauungsprozesse sehr viel länger dauern, auch bei der Anaphylatoxinabspaltung keine sichtbare Abnahme des Antigens zu bemerken sei, so übersehen die Autoren, die diese Einwände machen, ganz, daß es sich bei der Anaphylatoxinbildung nur um die Anfangsstadien eines Eiweißabbaus handeln kann.

Die Tatsache, daß bei der Anaphylaxie, was Friedemann und andere gezeigt haben, mehr N. zerfällt, als es dem eingeführten Antigen entspricht, ist darauf zurückzuführen, daß durch das gebildete Gift auch ein Zerfall von Körpereiweiß statt hat.

IV. Dold und Aoki (Straßburg):

Beiträge zur Anaphylatoxinfrage.

Inmitten der sich widersprechenden Ansichten über das Anaphylatoxin und speziell über das Bakterienanaphylatoxin steht eine Tatsache — wie ich glaube — allgemein anerkannt da: daß beim Zusammenbringen von artfremdem Eiweiß, spez. Bakterieneiweiß mit frischem Serum durch eine Wechselwirkung ein giftiges Produkt, das sog. „Anaphylatoxin“ entsteht.

Wir haben uns die Frage vorgelegt, ob es möglich ist, die eine der beiden Komponenten, die Bakterien durch chemische und physikalische Mittel so zu verändern, daß die Bildung des giftigen Produktes ausbleibt.

Bekannt ist aus Versuchen von Friedberger und Goldschmied, daß man aus gekochten Bakterien ebenso das Gift gewinnt wie aus ungekochten; aus toten ebenso wie aus lebenden. Bekannt ist ja auch aus Versuchen von Neufeld und mir, daß in Granula umgewandelte Bakterien (Cholerabazillus) sich zur Bildung des Giftes nicht mehr eignen.

Wir haben nun die Bakterien (Paratyphus B), ehe wir sie mit dem frischen Serum zusammenbrachten, erst mit verschiedenen chemischen Reagentien, nämlich mit 40 % Formalin, 10 % Sublimat, 15 % Salpetersäure, 15 % Natronlauge ca. 2 Stunden lang, ferner mit Alkohol in verschiedenen Konzentrationen bis zu 30 Tage lang behandelt und natürlich in jedem Fall durch Waschen der Bakterien für eine möglichste Beseitigung der betreffenden Agentien gesorgt.

Dabei zeigte sich, daß die Vorbehandlung der Bakterien mit Sublimat und die mit Salpetersäure gar keinen Einfluß auf die Entstehung des Giftes ausübt. Bei den formalinisierten Bakterien war die Fähigkeit zur Giftbildung merklich vermindert, bei den mit Lauge vorbehandelten Bakterien fast ganz aufgehoben. Was die Vorbehandlung mit Lauge betrifft, so werden Bakterien bekanntlich durch die Lauge zum Teil ganz aufgelöst. Man muß deswegen von vornherein so viel Bakterienmasse nehmen, daß nach Abzug der aufgelösten Bakterien noch genügend für den Anaphylatoxinversuch verwendbare Bakterienmasse übrig bleibt.

Der Rest stellt eine klebrige Masse, bestehend aus gequollenen, in der Form veränderten Bakterien dar.

Die Unmöglichkeit, aus solchen gequollenen Bakterienleitern das Gift zu erhalten, läßt sich in Parallele stellen mit der Unfähigkeit der in Granula



verwandelten Bakterien, das Gift zu bilden. Es ist aber auch denkbar, daß der Einfluß der Reaktion hier hereinspielt: Wie Friedberger und Moreschi bei ihren Versuchen fanden, daß eine alkalische Reaktion das Verschwinden des Anaphylatoxins begünstigt bzw. das Gift zerstört, während eine saure Reaktion das Gift stabiler macht, so würden unsere Versuche zeigen, daß eine Vorbehandlung der Bakterien mit Alkalien der Giftbildung hinderlich ist, während eine Behandlung mit Säuren ohne Einfluß ist.

Ich komme nun zu unseren Alkoholversuchen. Kodama, der auf Veranlassung von Uhlenhuth Untersuchungen darüber anstellte, wie verschieden %ige Alkohole auf die antigenen Fähigkeiten von Pferdeeiweiß wirken, fand, daß die Fähigkeit von Pferdefleischeiweiß, anaphylaktische Antikörper zu bilden, schon in relativ kurzer Zeit (nach 1—10 Tagen) schwindet, wenn man das Pferdeeiweiß mit Alkohol behandelt, und zwar um so rascher, je konzentrierter der Alkohol ist, welchen man auf das Eiweiß einwirken läßt.

Wir versuchten deswegen auch festzustellen, welchen Einfluß Alkohol verschiedener Konzentration auf die Fähigkeit der Bakterien „Anaphylatoxin“ zu bilden, ausübt. Zu unserem Erstaunen fanden wir, daß die Vorbehandlung mit 60—100% Alkohol die Fähigkeit der Bakterien, Anaphylatoxin zu bilden, kaum beeinflußt. Bakterien, die bis zu 30 Tage lang im Alkohol lagen, lieferten mit frischem Serum zusammen noch das typische Gift.

Auf den ersten Blick möchte diese Tatsache als ein weiterer Beleg für die Auffassung erscheinen, daß das Anaphylatoxin doch nicht völlig identisch mit dem anaphylaktischen Gift ist. Aber diese Schlußfolgerung wäre voreilig. Man muß ja doch wohl annehmen, daß das Bakterieneiweiß, wie ja auch sonst, auch hier sich anderes verhält, als das gelöste Pferdeeiweiß. Nur aktive Bakterienanaphylaxieversuche, angestellt mit Bakterien, welche entsprechend lange mit Alkohol vorbehandelt sind, könnten diese Frage lösen. Solche Versuche sind im Gange. Wir versuchten nun weiterhin die Bildung des Giftes dadurch zu verhindern, daß wir diese Wechselwirkung zwischen Bakterien und Serum störten, indem wir die Bakterien mit einer Fetthülle umgaben und so zwischen Bakterien und Serum gewissermaßen eine Isolierschicht schoben.

Wir schüttelten die gut getrocknete Bakterienmasse in flüssigen Paraffin oder Sesamöl und suchten dadurch jedes Bakterium quasi mit einer Fetthülle zu umgeben. Hierauf zentrifugierten wir die in Fett eingehüllten Bakterien aus und digerierten wie sonst mit frischem Serum. Die Seren wurden dann vor der Injektion zur Befreiung von Fett durch ein befeuchtetes kleines einfaches Papierfilter filtriert. Das Resultat entsprach unseren Erwartungen: die so vorbehandelten Bakterien lieferten — mit frischem Serum zusammengebracht — entweder gar kein oder nur wenig Gift, so daß die injizierten Meerschweinchen entweder gar keine Erscheinungen oder nur leicht vorübergehende Krämpfe zeigten. Da man natürlich nicht jedes einzelne Bakterium mit Sicherheit mit einer Fetthülle umgeben kann, so ist es verständlich, daß es nicht in allen Fällen zu einem vollständigen Ausbleiben der Giftbildung kommt.

Daß nicht etwa die bloße Gegenwart von Fett die zur Giftbildung führende Reaktion zwischen Bakterien und Serum stört, zeigten Kontrollversuche, wo wir zu der Mischung Bakterien + Serum einfach Fett zusetzten. Wir erhielten in diesen Fällen stets ein akut tödliches Gift. Andererseits liefern Fettkügelchen + Serum kein Gift. Schüttelt man stundenlang Fett



mit frischem Serum, so daß es in Form von kleinsten Kügelchen mit dem Serum in Kontakt ist, und spritzt dann das durch ein einfaches Papierfilter filtrierte Serum Meerschweinchen ein, so erweist sich das Serum ganz ungiftig. Die Anhänger der Adsorptionstheorie werden annehmen, daß die Giftbildung bei den mit fettumhüllten Bakterien deswegen ausblieb bzw. vermindert war, weil die Fettoberfläche eine geringere adsorbierende Wirkung entfalte als die Oberfläche der nackten Bakterien. Dies dürfte bis zu einem gewissen Grade richtig sein, aber die Anhänger dieser Theorie berücksichtigen nicht die Tatsache, daß man aus gelöstem Bakterieneiweiß (Bakterienextrakten) wie überhaupt aus gelöstem Eiweiß ebenfalls das Gift erhält, daß man also der Bakterien als korpusculärer Elemente, als Adsorbentien zur Giftbildung gar nicht bedarf. Wir möchten deswegen unsere Versuchsergebnisse so deuten, daß durch die Fettumhüllung der Bakterien eine Wechselwirkung zwischen dem Bakterieneiweiß und Serum, welche zur Anaphylatoxinbildung führte, gestört und verhindert wird, und möchten demnach unsere Versuchsergebnisse als einen weiteren Beleg für die Auffassung betrachten, daß das Anaphylatoxin das Produkt einer Eiweiß-Serumreaktion ist.

Diskussion:

Weichardt (Erlangen): Zu den Resistenzerhöhungen bei der Anaphylaxie möchte ich bemerken, daß es nach unserer Ansicht nicht allein der parenterale Abbau der Eiweißspaltprodukte ist, welcher zur Entgiftung führt. Es spielen zweifellos Kuppelungen der Eiweißspaltprodukte hierbei eine große Rolle. Wir konnten in der letzten Zeit eine Reihe derartiger entgiftender Kuppelungen demonstrieren. Man muß allerdings, um die Kuppelungen zu beweisen, chemische Trennungen vornehmen. So konnten wir zeigen, daß das histidinreiche Globin ungiftig wird, wenn es an den Farbstoffpaarling, das Hämatoporphyrin. gekettet ist. Schon früher hatte ich gezeigt, daß höhermolekulare Eiweißspaltungprodukte durch geringe Mengen aceton- und toluol-löslicher Stoffe entgiftet werden. Es gelang mir jetzt, einen derselben zu fassen.

Es zeigte sich, daß es sich um Succinimid handelt. Wir glauben, daß das leicht substituierbare Imidwasserstoffatom die Ursache der Entgiftung ist und verfolgen die Verwandtschaft dieses Stoffes mit dem Pyrrol mit Interesse; glauben auch, daß wir bei konsequentem Verfolgen der gegebenen Grundlagen zu noch viel bemerkenswerteren Entgiftungen kommen werden.

Sachs (Frankfurt): Die Demonstrationen Friedbergers über den morphologischen Lungenbefund bei verschiedenen Formen der Anaphylaxie haben mich auch insofern interessiert, als sie auf histologischer Basis eine Bestätigung erbracht haben für Differenzen, welche sich Herrn Dr. Ritz und mir bereits bei makroskopischer Inspektion der Lungen ergeben hatten, und über welche wir Ihnen im vorigen Jahre kurz berichten konnten. Wir hatten hierbei gesehen, daß die Lungenstarre bei der Anaphylatoxinwirkung in einer größeren Zahl der Versuche von Hämorrhagien begleitet war, dieselbe Differenz aber auch beobachten können, wenn wir bei der aktiven Anaphylaxie das Antigen unter Zusatz von größeren Mengen normalen Meerschweinchenserums reinjizierten.

Die interessanten Mitteilungen Friedbergers über die Abhängigkeit der tödlichen Antigendosis bei der aktiven Anaphylaxie von dem Volumen der Injektionsflüssigkeit und dem Gewicht der Versuchstiere kann ich auf Grund von Versuchen von Ritz durchaus bestätigen. Es handelt sich hier um Befunde, die für die vergleichende Feststellung der Giftwirkung verschiedener Sera bei der aktiven Anaphylaxie von großer praktischer Bedeutung sind. Wir selbst injizieren daher bei derartigen Versuchen verschiedene Antigenmengen in gleichem und kleinem Volumen (0,3—0,5 cc). Was das Gewicht der Versuchstiere anlangt, so sind die von uns beobachteten Differenzen noch schroffer, indem sich uns ergeben hat, daß Tiere von etwa 200 g nicht nur der gleichen, sondern größerer Antigenmengen für den tödlichen Ausgang bedürfen, als Tiere von 300—350 g. Die letzteren scheinen uns die größte Empfindlichkeit bei der aktiven Anaphylaxie aufzuweisen.

Wenn ich nun noch kurz auf die theoretische Seite der Anaphylaxiefrage eingehen darf, so glaube ich doch, daß wir von einer befriedigenden Auffassung der mannigfachen Erscheinungskomplexe weiter entfernt sind, als es nach der Theorie des durch Komplementwirkung bedingten parenteralen Eiweißabbaus, den Anschein hat. Ich habe daher in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Ritz bereits im vorigen Jahre die Frage von anderer Seite in Angriff zu nehmen mich bemüht. Ich stimme Friedberger bei, wenn er die von uns durch Digerieren von Meerschweinchenserum mit Kaolin erhaltenen Resultate nicht für beweiskräftig erachtet; er bestätigt damit nur unsere eigenen Ausführungen. Wir können andererseits die Angaben Friedbergers bestätigen, daß das Kaolin-Meerschweinchenserum durch langes und scharfes Zentrifugieren mit dem Verschwinden geringer Kaolinreste auch seine Toxizität verliert. Ganz abgesehen davon aber, daß man bei der von uns erwiesenen Entgiftung des Anaphylatoxins durch Kaolin diesen Befund derart auffassen könnte, daß das Gift dem Kaolin adhäriert, so zeigt doch eine nähere Analyse, daß man die Giftwirkung des mit Kaolin behandelten Meerschweinchenserums von derjenigen des Koalins in gewisser Hinsicht differenzieren kann. Ich hatte bereits gestern im Anschluß an den Vortrag des Herrn Dold Gelegenheit, die Giftwirkungen des Koalins zu erwähnen, welche in der Tat denjenigen des Kaolinmeerschweinchenserums ähnlich sind. Wenn ich kurz rekapitulieren darf, so wird nach den Versuchen von Ritz die giftige Funktion des Kaolins durch aktives Meerschweinchenserum, nicht oder weniger gut durch inaktiviertes Meerschweinchenserum, abgeschwächt. Während nun das Kaolin in bezug auf seine giftige Wirkung natürlich thermostabil ist, wird die Toxizität des Kaolinserums durch ½ stündiges Erhitzen auf 60° aufgehoben. Wenn ich mich mit diesem Hinweis begnüge und die Frage nach der Bewertung der hier interferierenden toxischen Stoffe auch heute noch in suspenso lasse, so glaube ich doch die von Friedberger erörterte Möglichkeit ausschließen zu müssen, daß es sich um Giftwirkungen handeln könnte, die auf die größere Menge des injizierten Serums zu beziehen sind. Nach unseren Erfahrungen wenigstens kann man entsprechende Mengen (4 cc) von Pferdeserum und Meerschweinchenserum injizieren, ohne irgendwie nennenswerte Erscheinungen wahrnehmen zu können, Die Krämpfe und Zuckungen hingegen, welche nach der Injektion des Koalinserums eintreten, sind ausgesprochene und von erheblichem Temperatursturz begleitet.

Im übrigen möchte ich nicht die von Ritz und mir diskutierte Auffassung über das Zustandekommen der Anaphylaxie einfach als Absorptionstheorie bezeichnet wissen. Das wesentliche unserer Auffassung ist, daß wir dem Antikörper bei der Anaphylaxie keine direkt funktionelle Rolle zuschreiben, dementsprechend die Beteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie nicht für erforderlich erachten, daß wir vielmehr der Ansicht sind, daß der Antigen-Antikörperkomplex indirekt auf die Blutbeschaffenheit derart einwirkt, daß eine schwere Noxe entsteht, eine Anschauung, wie sie ja in letzter Zeit auch von Bauer, besonders aber von Dörr in ähnlicher Weise vertreten wurde. Von diesem Gesichtspunkt aus können bei der Anaphylatoxingewinnung in vitro die Bakterien bereits den Präzipitaten entsprechen.

Tatsächlich können die Beweise, welche für die Beteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie angeführt werden, nicht als genügend stichhaltig gelten. Bei der Kürze der mir zur Verfügung stehenden Zeit ist es nicht möglich, auf die Einzelheiten einzugehen. Nur über den Komplementschwund einige Worte. Wie bereits durch die Untersuchungen Ottos bekannt ist, kann aktive Anaphylaxie mit stürmischen Erscheinungen bestehen, ohne jeglichen Komplementschwund. Daß aber andererseits, wenn größere Mengen Antigen und Antikörper, wie das bei der passiven Anaphylaxie der Fall ist, in vivo zusammenwirken, ebenso wie im Reagensglase Komplementschwund auftritt, ist eine längst bekannte Tatsache, deren Zusammentreffen mit den Anaphylaxieerscheinungen selbstverständlich ist, ohne daß sich daraus eine Berechtigung zu einer kausalen Verknüpfung der beiden Phänomene ergibt. Was den Kochsalzschutz bei der Anaphylaxie anlangt, so hat Ritz gezeigt, daß die Versuche Friedbergers und Hartochs für die Frage der Beteiligung des Komplements bei der Anaphylatoxinbildung keine Beweiskraft beanspruchen können, weil man in gleicher Weise auch gegenüber der Wirkung des fertigen Anaphylatoxins schützen kann. Ritz hat aber ausdrücklich die Möglichkeit offen gelassen, daß das Kochsalz auch auf die Giftbildung wirken kann. Und wenn die neueren Versuche Friedbergers im Reagenzglase einen Einfluß erhöhter Kochsalzkonzentration auf die Giftbildung ergeben haben, so wird man natürlich von einem Einfluß des Kochsalzes auf die Giftentstehung sprechen können, ohne aber auch hieraus einen Schluß auf die Beteiligung des Komplements ziehen zu müssen. Die wiederholt angeführten Versuche von Hartoch und Sirensky lassen vorläufig aber nicht einmal eine derartige Betrachtung zu.

Neben dem Fehlen an Beweisen für die Theorie der Komplementwirkung und des



parenteralen Eiweißabbaus gibt es auch eine Reihe von gewichtigen Bedenken, die erst kürzlich von Dörr erörtert worden sind. Keineswegs gestatten die herrschenden Anschauungen einen hinreichend befriedigenden zusammenfassenden Ueberblick. Deutungsversuche in anderer Richtung dürften daher durchaus von Nutzen sein, und so scheinen mir gerade die neueren interessanten Arbeiten Dörrs, wenn sie auch in letzter Linie nicht zu einer präzisen Formulierung der Vorgänge gelangen, besonderer Beachtung wert zu sein.

Friedemann: Da bei der Bildung des Anaphylaxiegiftes aus Blutkörperchen die Mitwirkung eines Ambozeptors sich als notwendig erwiesen hat, ist es auch sehr wahrscheinlich, daß das Komplement dabei eine Rolle spielt. Es wäre gesucht andere thermolabile Substanzen des Normalserums zur Erklärung der Giftbildung heranzuziehen. Anders bei der Bakterienanaphylatoxinbildung, bei der eine Mitwirkung des Ambozeptors nicht erwiesen ist. Darum ist auch eine Beteiligung des Komplementes sehr zweifelhaft. In Gemeinschaft mit Dr. Herzfeld hat F. Versuche über Gewinnung des Anaphylaxiegiftes aus Bakterien mit inaktiviertem Serum angestellt. Diese Experimente brachten zunächst eine Bestätigung der Resultate von Neufeld und Dold u. a., daß die Gewinnung von Giften möglich ist, die aber nicht akut, sondern bestenfalls in 1—2 Stunden töten. Es kann sich darum um Vorstufen des Giftes handeln, die durch inaktives Serum den Bakterien entzogen werden und sich erst im Tierkörper in das Gift umwandeln. Durch Benutzung von 5% inaktiven Serums gelang es aber aus Bakterien (½—1 Prodigiosusagarkultur) ganz akut wirkende Gifte mit typischem Befund darzustellen. Die Versuche gelingen nicht mit der gleichen Regelmäßigkeit wie bei Verwendung des aktiven Serums. Das ist aber auch nicht zu verlangen, da abgesehen von der Zerstörung des Komplementes beim Erwärmen Veränderungen im Serum vor sich gehen können, die der Giftbildung ungünstig sind.

Ob diese Versuche mit der Anaphylaxie im unmittelbaren Zusammenhang stehen, läßt sich noch nicht mit aller Bestimmtheit sagen. Sie lassen sich jedenfalls mit der Auffassung Friedbergers von der Bakterienanaphylaxie nicht in Einklang bringen. Wird aber ein Zusammenhang dieser Versuche mit der Anaphylaxie abgelehnt, dann dürfen wir den akuten Tod nicht mehr als Kriterium der Anaphylaxie betrachten. Das ist auch aus allgemein physiologischen Gründen ungerechtfertigt.

Die Versuche über Anaphylatoxinwirkung beim Meerschwein haben deshalb keineswegs mehr Beweiskraft als die zuerst von F. ausgeführte Giftdarstellung aus Blutkörperchen, in der Kaninchen als Versuchstiere dienten. Entscheidend ist nicht der akute Tod, sondern die akute Erkrankung. F. hält daher seinen Anspruch, das Anaphylaxiegift in einwandsfreier Weise zuerst dargestellt zu haben, aufrecht.

Jacobsthal (Hamburg): Herr Dr. Bornstein, Vorsteher der physiologisch-chemischen Abteilung unseres Institutes, hat mich autorisiert hier einen Versuch mitzuteilen, der für die Frage nach der Rolle des Komplementes beim anaphylaktischen Shock von Bedeutung ist. Bornstein hat Meerschweinchen intravenös konzentrierte Kochsalzlösung in untertödlicher Menge eingespritzt.

Er hat dann festgestellt, daß, berechnet aus dem Hämoglobinwert, die Blutmenge eines solchen Tieres in etwa 3 Minuten und durchschnittlich 60% zunimmt, dadurch, daß das hypertonisch gewordene Blut den Geweben Wasser entzieht. Nach etwa 10 Minuten ist die Blutmenge infolge von Wasserausscheidung durch die Nieren wieder zur Norm zurückgekehrt.

Nun haben Sie soeben aus den schönen Untersuchungen von Herrn Friedberger gesehen, daß das Anaphylaxiegift, in eben tödlicher Dosis eingespritzt, nicht den Tod herbeiführt, wenn es in einer größeren Flüssigkeitsmenge eingeführt wird. Ferner hat Herr Friedberger in früheren Versuchen gezeigt, daß ein Tier, das an einer eben tödlichen Anaphylaxie sterben würde, durch Einführung von untertödlichen Mengen konzentrierter Kochsalzlösung von dem Tode durch Anaphylaxie gerettet werden kann. Herr Friedberger hat dabei aber nicht in Rechnung gezogen, daß sich, wie Bornsteins Versuche zeigen, durch die Kochsalzeinspritzung das Blutvolumen vermehrt, und durch diese Vermehrung allein schon das Ausbleiben des Todes erklärt werden kann. Es liegt uns ferne, behaupten zu wollen, daß die Beteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie ohne Bedeutung ist; es darf nur behauptet werden, daß der bekannte Friedbergersche Salzversuch in dieser Richtung nicht beweisend ist.

Friedberger (Berlin) (Schlußwort): Zunächst möchte ich gegenüber der interessanten Deutung, die Herr Jakobsthal unseren Salzversuchen gegeben hat, nur kurz be-



merken, daß seine Erklärung schon deshalb völlig ausgeschlossen ist, weil ja auch in vitro schon bei geringfügiger Erhöhung der Isotonie die Giftbildung ausbleibt bei Vermehrung der Kochsalzmenge um Dosen, die im Körper noch gar keine Rolle spielen. Es hat mich sehr gefreut, daß Herr Sachs heute meine Angabe bezüglich des kaolinisierten Serums bestätigt hat, wonach bei genügend langem Centrifugieren die temperaturherabsetzende Wirkung schwindet. Was die Wirkung des Kaolins auf die Temperatur anlangt, so kann man sie entweder in einem mechanischen Effekt der spitzen Kaolinteilchen auf die Gefäßendothelien suchen (vgl. die Versuche über Temperaturbeeinflussung durch mechaniche Reize (Stricker), Heubner („Paraffinfieber"), oder auch in der eigentümlichen zellzerstörenden Wirkung, die für das Kaolin jüngst von mir in Gemeinschaft mit Kumagai gegenüber Erythrocyten und Bakterien studiert ist.

Wenn mir nun Herr Sachs darin beipflichtet, daß für die an sich ja vielleicht sehr sympathische Adsorptionstheorie zur Erklärung der Anaphylatoxinbildung tatsächlich kein Beweis vorliegt, so kann ich meinerseits doch nicht anerkennen, daß die Abbauhypothese ebenfalls nicht gestützt sei. Die Beweise sind bekannt, ich muß leider wegen der vorgerückten Zeit verzichten, darauf noch einmal einzugehen.

Was die Diskussionsbemerkungen von Herrn Friedemann anlangt, so möchte ich nicht noch einmal auf seine früheren Versuche zurückgreifen, über die ich mich ja wiederholt ausführlich geäußert habe und an deren Auffassung durch mich auch seine heutigen Ausführungen nichts geändert haben.

Die neuen Versuche von Herrn Friedemann mit Herrn Herzfeld über Giftabspaltung aus Bakterien durch verdünntes normales inaktives Meerschweinserum sind wohl mit denen des Herrn Aronson zu identifizieren, der sogar überhaupt ohne Normalmeerschweinserum durch physiologische Kochsalzlösung allein auch tödliches Gift erhalten hat. Ich konnte aber zeigen, daß Herr Aronson dazu 1400 mal mehr Bakterien bei langer umständlicher und eingreifender Schüttelprozedur benötigt, als genügen, um fast momentan ein akut tötendes Anaphylatoxin durch aktives Komplementserum zu erzielen. Wir konnten dann zeigen, daß bei diesen Prozeduren Bakterienleibessubstanzen in Mengen in die Suspension übergehen, die an sich von Vollbakterien nach Friedberger akut töten (vgl. die Arbeiten von Lurà und Frösch). Das, worauf es ankommt, ist, daß die Anaphylatoxinbildung aus kleinen Bakterienmengen, die an sich ganz indifferent sind, allein durch vorherige Behandlung mit aktivem Normalmeerschweinserum (Komplement) möglich ist.

V. Wilhelm Nöller (Berlin):

Demonstration einer neuen Arbeitsmethode zum Studium der Krankheitsübertragung durch Flöhe.

Der Vortragende demonstriert kurz seine Methode, nach der er seine Uebertragungsversuche bei Trypanosoma lewisi mit Flöhen durchgeführt hat. Da das Experimentieren mit frei beweglichen Flöhen in Serienversuchen sehr schwierig ist und selbst bei größter Sorgfalt nur unsichere Ergebnisse liefert, hat er seine Untersuchungen mit Hundeflöhen angestellt, die er an feine Silberdrähtchen gefesselt hat, ähnlich wie ja im Flohzirkus gefesselte Flöhe benutzt werden. Er hat stets nur weibliche Hundeflöhe gefesselt, weil diese größer sind als die Männchen.

Zum Fesseln wurde 0,15—0,2 mm dicker Silberdraht benutzt. Von ihm wurden 10 cm lange Stücke abgeschnitten und in ihrer Mitte um eine Präpariernadel geknickt; die beiden Schenkel des so gebogenen Drahtes wurden dann zu einem kleinen Drahtseile so zusammengedreht, daß eine kleine Oese entsteht. Die beiden Drahtenden bleiben ca. 1 cm weit frei. Die soeben von Hunden (oder Kaninchen) abgelesenen Hundeflohweibchen werden auf ein mit Wasser gefülltes Becken geworfen, um sie am Fort-



springen zu hindern. Dann wird ein Floh zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand gefaßt und die in mit der rechten Hand gehaltene Oese hineingeschoben. Das erste Beinpaar gelangt unschwer durch die Oese; das zweite wird mit einer feinen Präpariernadel noch nachgezogen. Dann wird die Oese, die also zwischen dem zweiten und dritten Beinpaare den Thorax des Flohes umfaßt, durch Pinzettendruck soweit verengert, daß sich der Floh nicht befreien kann. (Eine Fesselung zwischen dem ersten und zweiten Beinpaare ist unbrauchbar da der Hundefloh dann meist am Saugen gehindert wird.) Der Stiel der Oese wird dann zweimal rechtwinkling geknickt, wie aus Figur 1 ersichtlich ist.

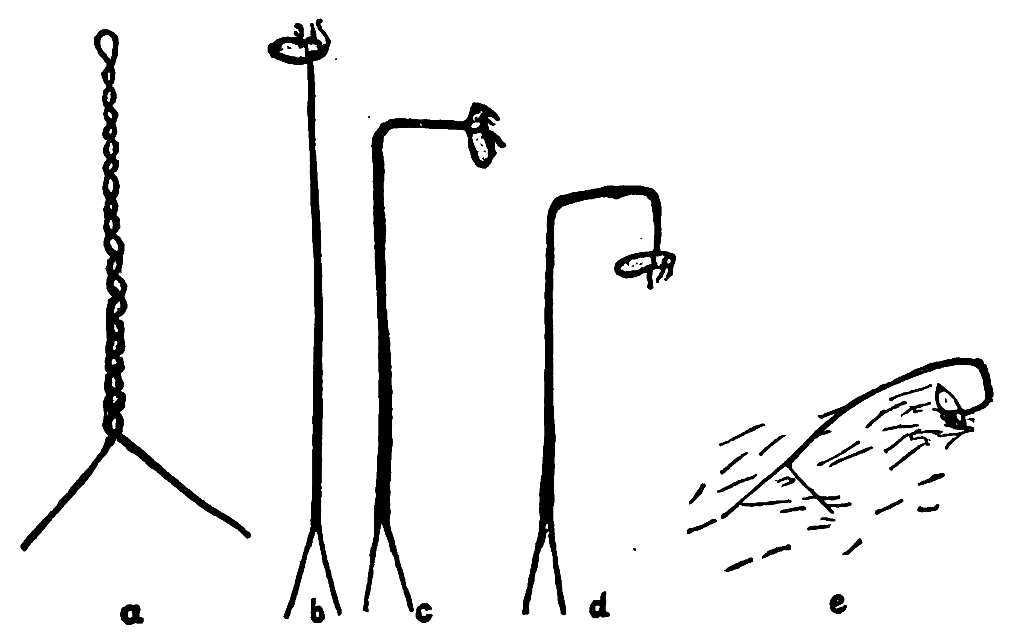


Fig. 1. Schema zur Erläuterung der Herstellung der Saugeböckchen. a. Silberdrahtöse. b. Oese mit Floh. c. Oese nach der ersten Knickung. d. Fast fertiges Saugböckchen. e. Fertiges Saugböckchen schräg von der Seite gesehen. (Aus Nöller, Die Uebertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe.)

Die freien Drahtenden des Oesenstieles werden dann auseinandergespreizt, so daß ein kleines Gestell entsteht, an dem der Floh in Saugstellung (—der Hundefloh steht beim Saugen in einem Winkel von 50—80° zur Haut! —) festgehalten wird. Mit diesem Saugböckchen wird der Floh alltäglich 2½—4 Stunden auf eine in der gebräuchlichen Weise aufgespannte (lebende!) Ratte gesetzt, auf der er bei Zimmertemperatur (+ 20° C) sofort zu saugen beginnt.

Nach Beendigung der Fütterung können die Flöhe bis zum folgenden Saugakte bei den Temperaturen gehalten werden, die die Entwicklung der aufgenommenen Mikroorganismen am meisten begünstigen. Die Flöhe ertragen die Fesselung ohne Schaden. Der Vortragende hat mit einem gefesselten Hundefloh einen Serienversuch 38 Tage lang durchgeführt.

Durch systematische mikroskopische Prüfung der während des Saugaktes abgegebenen Flohfäces läßt sich leicht und sicher feststellen, ob der Floh schon spontan mit Parasiten (*Leptomonas spec.*, *Nosema pulicis* Nöller, *Malpighiella refringens* Minchin) infiziert ist, und wie weit die Entwicklung aufgenommener Mikroorganismen fortgeschritten ist.



Der Vortragende glaubt seine Methode wegen ihrer großen Vorteile, besonders wegen der großen Sicherheit ihrer Ergebnisse, vor allem für die weitere Erforschung der Pestübertragung und zur Prüfung der Kalaazar-

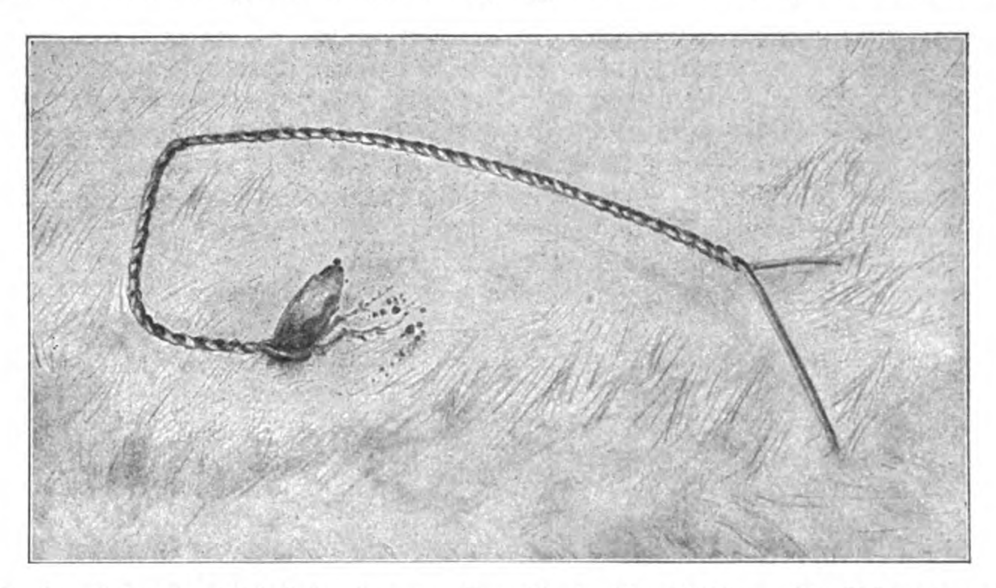


Fig. 2. Gefesselter Floh beim Saugen. Vergrößert. (Aus Nöller, Die Uebertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe.)

frage warm empfohlen zu müssen. Vielleicht läßt sich die Methode mit Vorteil auch bei anderen blutsaugenden Insekten anwenden. Bezüglich weiterer Einzelheiten und der Ergebnisse, die der Vortragende mit dieser Methode bei der Untersuchung der Rattentrypanosomen erhalten hat, sei auf seine Arbeit verwiesen: Nöller, W. (1912): Die Uebertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe. Archiv für Protistenkunde. Bd. 25, S. 386—424.

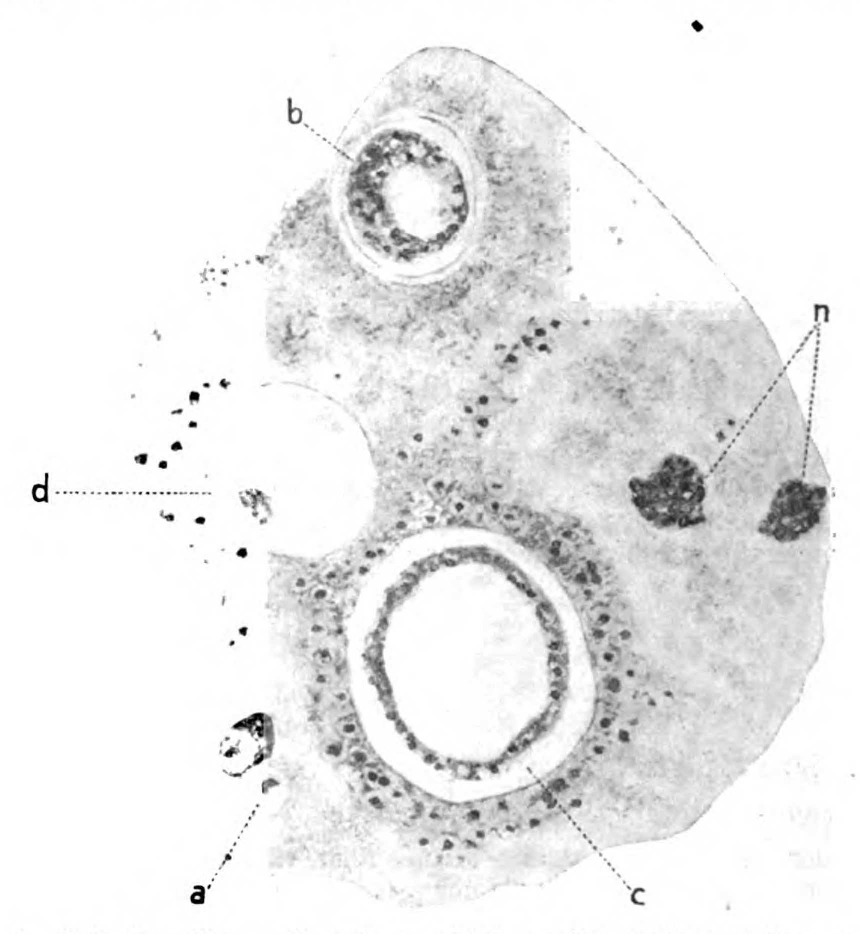
VI. Max Hartmann:

Demonstration eines neuen menschenpathogenen Protisten.

Bei der Obduktion eines im Krankenhaus in Amsterdam gestorbenen Mannes, bei dem ein maligner Tumor mit Metastasen diagnostiziert worden war, fand Herr Dr. Schoo auf Schnitten durch die sehr veränderte Milz, Leber, Ileum und benachbarte Drüsen Stadien eines sehr merkwürdigen Protisten. Die Krankengeschichte sowie die pathologisch-anatomischen Befunde waren sehr absonderlich und charakteristisch (kurze Demonstration der pathologisch-anatomischen Befunde von Dr. Schoo nach dessen Photogrammen).

Das fixierte Material übergab mir Herr Dr. Schoo zum genaueren Studium, und wir werden demnächst gemeinsam unsere Befunde im Archiv für Protistenkunde niederlegen. Hier sei nur kurz über die Entwicklung des Protisten berichtet.

Die jüngsten Stadien sind kleine, etwas längliche Zellen mit meist exzentrisch gelegenen Kern, die aus einer multiplen Teilung (Schizogonie) hervorgegangen sind. Ihre häufig unregelmäßig lappige Form deutet darauf hin, daß sie sich amöboid bewegen können. Diese kleinen Formen (Merozoiten) dringen nun aktiv in neue Wirtszellen ein und wachsen dort zu kugeligen Zellen heran (Textfig. 1a). Dabei bildet sich eine cystenartige Hülle um den Parasiten. Bei diesen offenbar sehr rasch heranwachsenden Schizonten tritt in den meisten Fällen sehr früh eine Kernvermehrung durch fortgesetzte Kernteilung ein. Die Kerne sind kleine Caryosomkerne ohne deutlichen Außenkern. In seltenen Fällen beobachtet man auch große erwachsene Schizonten, mit nur einem großen Kern. Ob hier nur eine verspätete Kernteilung vorliegt oder ob es sich um Formen von anderer Bedeutung (ev. Geschlechtsformen) handelt, muß vorerst unentschieden bleiben.



Textfig. 1. Teil einer Riesenzelle mit verschiedenen Entwicklungsstadien von *Coccidioides immitis* (*Blastosporidium Schooi*). a junger Schizont, b mittlerer, vielkerniger Schizont mit beginnender Vakuolenbildung, c fertiger Schizont, d Ende der Schizogonie, Kapsel mit kleinem Restkörper, Merozoiten in der Wirtszelle zerstreut, meist um den daneken liegenden Schizonten, n Kerne der Wirtszelle. Vergr. c. 1950.

Früher oder später bildet sich nun im heranwachsenden Parasiten eine zentrale Vakuole, die anfangs meist etwas exzentrisch liegt (Textfig. 1b). Sie nimmt an Umfang immer mehr zu, so daß von dem Parasiten nur eine dünne Protoplasmaschicht bleibt, in der eine einzige Lage von Kernen sich



findet (Textfig. 1c). Der Parasit hat nun das Aussehen einer blastulaartigen Hohlkugel. Weiterhin grenzt sich um jeden Kern eine Protoplasmapartie ab, wodurch nun vollständig die Form einer Blastula erreicht wird, da die einzelnen Zellen zunächst noch zu der Hohlkugel verbunden bleiben. Bald lockert sich jedoch der Verband, die einzelnen Zellen (Merozoiten) lösen sich und treten, meist nicht ganz gleichzeitig, aus der Cyste ins Plasma der Wirtszelle (Textfig. 1d).

Entweder können nun die Merozoiten in derselben Zelle wieder heranwachsen, falls sie noch nicht zu stark zerstört ist, oder sie wandern in neue Wirtszellen; der geschilderte Vermehrungsprozeß wiederholt sich in beiden Fällen in der gleichen Weise.

Infolge des merkwürdigen, blastulaartigen Stadiums, das der Parasit vor der Schizogonie aufweist, gab ich ihm den Gattungsnamen *Blastosporidium* und nannte ihn zu Ehren seines Entdeckers *Blastosporidium Schooi*. Bezüglich seiner Stellung im System hielt ich ihn für eine Haplosporid und betonte schon bei der ersten Demonstration in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft die Verwandtschaft dieser Protisten mit niederen Pilzen (Phycomyceten). Nach Einsicht meiner Präparate machte mich nun gestern Herr Kollege v. Wasielewski darauf aufmerksam, daß der Parasit aus Amerika als Erreger von Hauttumoren schon beschrieben ist und daß Montgomery einen Fadenpilz daraus gezüchtet habe, der nach Verimpfung auf Versuchstiere die hier beschriebenen Formen (Blastula usw.) im Tierkörper gäbe. Ein Schüler von Herrn v. Wasielewski (Cohn, Hyg. Rundschau 1900) hat die Befunde der amerikanischen Autoren mit übersandten Kulturen bestätigt. Da der Parasit schon von Stiles den Namen *Coccidioides immitis* erhielt, so muß der von mir vorgeschlagene Name wieder gestrichen werden.

Durch diese Befunde ist die Pilznatur des Parasiten erwiesen, und sie machen es zugleich wahrscheinlich (ebenso wie die neuen Untersuchungen von Plehn und Mulsow an einem sog. Haplosporid der Fische), daß die meisten Haplosporidien in Wirklichkeit niedere Pilze (Phycomyceten) sind, die ja allerdings den Protozoen näher stehen als den übrigen Pilzen (Eumyceten).



Mitglieder-Liste

der

Freien Vereinigung für Mikrobiologie.

Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
1	Abel	Geh. Ober-Med.-Rat	Berlin	Ministerium des Innern
2	Altmann	Abteilungsvorsteher	Frankfurt a. M.	Städt. Hyg. Institut
3	Apolant	Professor	Frankfurt a. M.	Paul Ehrlichstr. 44
4	Bail	„	Prag	Hyg. Institut
5	Ballner	Privatdozent, Stabsarzt	Innsbruck	„ „
6	v. Baumgarten	Professor	Tübingen	Pathol. Institut
7	Beck	Reg.-Rat, Prof., Reg.-Arzt	Lindi	Deutsch Ostafrika
8	v. Behring	Wirkl. Geh.-Rat, Exz., Prof.	Marburg	Hyg. Institut
9	Besserer	Kreisarzt	Münster i. W.	Bakt. Untersuchungsamt
10	Biedl	Professor	Wien IX	Kinderspitalgasse 15
11	Bischoff	Ober-Stabsarzt, Professor	Berlin W 15	Hohenzollerndamm 2
12	Bitter	Professor	Cairo	Hyg. Institut
13	Bongert	Städt. Ober-Tierarzt	Berlin W. 50	Prager Str. 11
14	Bonhoff, H.	Professor	Marburg	Hyg. Institut
15	Břczina	Priv.-Doz.	Wien	Kinderspitalgasse 15
16	Brieger	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Hydrotherapeut. Institut
17	Bruns	Professor	Gelsenkirchen	Institut für Hyg.
18	Bugge	Vorsteher	Kiel	Bakter. Institut f. Tierseuchen
19	Burri	Professor	Liebefeld b. Bern	
20	Bürgers	Privatdozent	Königsberg i. Pr.	Hyg. Institut
21	Casper	Professor	Breslau X	Matthiasplatz 17
22	Conradi	„	Halle a. S.	Hyg. Institut
23	Czaplewski	Direktor, Prof.	Köln a. Rh.	Städt. bakt. Laboratorium
24	Dammann	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Hannover	Tierärztl. Hochschule
25	Dietrich	Prof., Prosektor	Westend-Berlin	Städt. Krankenhaus
26	Dieudonné	Professor, Min.-Rat	München	Min. d. Innern
27	Doerr	Regimentsarzt, Privatdozent	Wien IX	Bakt. Labor. d. k. k. Milit.-San.-Kom.
28	Doflein	Professor	München	Zool. Museum
29	v. Drigalski	Prof., Stadtarzt	Halle a. S.	
30	Dunbar	Professor	Hamburg	Hyg. Institut
31	v. Dungern, Freih.	„	Heidelberg	Institut f. Krebsforschung
32	Dürck	„	Jena	Pathol. anat. Institut
33	Ehrlich	Wirkl. Geh. Rat Exz., Prof.	Frankfurt a. M.	Institut f. exper. Therapie
34	v. Eisler	Privatdozent	Wien	Serotherapeut. Inst.
35	Emmerich	Professor	München	Hyg. Institut

Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
36	v. Esmarch	Prof., Geh. Med.-Rat	Göttingen	Hyg. Institut
37	Ficker	Professor	Berlin	" "
38	Findel	Stabsarzt	Spandau	
39	Finger	Geh. Med. Rat	Berlin	Ministerium des Innern
40	Fischer	Geh. Med.-Rat, Prof.	Kiel	Hyg. Institut
41	Flügge	" " "	Berlin	" "
42	Fornet	Stabsarzt	Berlin	Scharnhorststr. 35
43	Fränkel	Geh. Med.-Rat, Prof.	Halle a. S.	Hyg. Institut
44	Friedberger	Privatdozent, Prof.	Berlin NW 7	Dorotheenstr. 28
45	Friedemann	Professor	Berlin	Krkh. Moabit
46	Frosch	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Tierärztl. Hochschule
47	Fülleborn	Professor	Hamburg	Tropen-Institut
48	Gaffky	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
49	Gärtner	Geh. Hofrat, Prof.	Jena	Hyg. Institut
50	Gehrke	Vorsteher	Stettin	Städt. Gesundheitsamt
51	Ghon	Professor	Wien	Pathol. anatomisches Institut
52	Glage	Ober-Tierarzt, Prof.	Hamburg	Bakt. Station d. Veterinärw.
53	Gonder		Hamburg	Tropenhygienisches Institut
54	Gottschlich, E.	Sanitäts-Inspektor, Prof.	Alexandrien	
55	Grasberger	Professor	Wien	Hyg. Institut
56	v. Gruber	Geh. Hofrat, Prof.	München	" "
57	Günther	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin SW	Kochstr. 73
58	Haendel	Reg.-Rat, Prof.	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
59	Hahn	Professor	Freiburg	Hyg. Institut
60	Hammerl	"	Graz	" "
61	Hartmann	Privatdozent, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
62	Heim	Professor	Erlangen	Hyg. Institut
63	Heinze	Kreisarzt	Potsdam	Med. Unters.-Amt
64	Heymann	Privatdozent, Prof.	Berlin	Hyg. Institut
65	Heller	Privatdozent	Dresden A. 5	Sächs. Serumwerk
66	Helly	"	Würzburg	Pathol. Institut
67	Herr	Stabsarzt	Posen	
68	Hetsch	Oberstabsarzt	Freiburg	
69	Hilgermann	Kreisarzt	Koblenz	
70	Hofer	Professor	München	Biologische Station
71	Hofmann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Leipzig	Hyg. Institut
72	Hoffmann	Ober-Stabsarzt, Prof.	Berlin	
73	Hoffman	Professor	Bonn	Klinik f. Haut- u. Geschlechtskrankh.
74	Hübener	Ober-Stabsarzt, Professor	Berlin	Garnisonlaz. 1
75	Hüne	Stabsarzt	Stettin	
76	Hüppe	Professor	Prag	Hyg. Institut
77	Jaeger	Generaloberarzt, Prof.	Koblenz	Triererstr. 15
78	Jakobitz	Oberstabsarzt	Karlsruhe	
79	Jakobsthal	Prosektor	Hamburg	Krankenh. St. Georg
80	Jochmann	Privatdozent, Prof.	Berlin	Rud. Virchow-Krankenhaus
81	Joest	Professor	Dresden	Tierärztl. Hochschule
82	Kaiser	Stabsarzt	Altona	Schubertstr. 3
83	Kathe	Privatdozent	Halle	Hygien. Institut
84	Kirchner	Wirkl. Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 7	Ministerium des Innern
85	Kirstein	Kreisarzt	Stettin	Med. Untersuchungsamt
86	Kißkalt	Professor	Königsberg	Hyg. Institut
87	Kister	Abteilungsvorsteher, Prof.	Hamburg	" "
88	Kitt	Professor	München	" "
89	Klemensiwicz	San.-Rat, Professor	Graz	Merangasse 9
90	Klimmer	Professor	Dresden	Reinickstr. 7
91	Koch, J.	"	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
92	Kolle	"	Bern	Hyg. Institut, Friedbühlstr. 22
93	Kossel	"	Heidelberg	Hyg. Institut
94	Köttgen	Stadt- u. Kreisarzt	Dortmund	



Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
95	Kraus	Professor	Wien	Serotherap. Institut
96	Krause	„	Bonn	Med. Pol.-Klinik
97	Kretz	„	Würzburg	Pathol. Institut
98	Krumbein	„	Bern	Hyg. Institut
99	Kruse	„	Bonn	„ „
100	Küster	„	Freiburg i. Br.	„ „
101	Kuhnt	Abt. Vorst.	Berlin	Luisenstr. 56
102	Kutscher	Stabsarzt	Berlin W 50	Eislebenerstr. 9
103	Landmann		Darmstadt	
104	Landsteiner	Prosektor, Professor	Wien XVI	Wilhelminenspital
105	Lange	Professor	Dresden	Hyg. Institut
106	Lehmann	„	Würzburg	„ „
107	Lentz	„	Saarbrücken	„ „
108	Levy	„	Straßburg	„ „
109	Liefmann	Privatdozent	Berlin	Rudolf Virchow-Krankenh.
110	v. Lingelsheim	Professor	Beuthen Ob.-S.	Hyg. Institut
111	Lockemann	Abteilungsvorsteher, Prof.	Berlin	Inst. für Infekt.-Krankheiten
112	Löffler	Geh. Med.-Rat, Prof.	Greifswald	Hyg. Institut
113	Lösener	Generaloberarzt	Magdeburg	
114	Lorenz	Obermedizinalrat, Prof.	Darmstadt	
115	Lühe, M.	Professor	Königsberg i. Pr.	Tragheimer Pulverstr. 4a
116	Maaßen	Regierungsrat	Dalem b. Berlin	Biologische Reichsanstalt
117	Markl		Triest	Corso 12
118	Martini	Marine-Generaloberarzt, Prof.	Wilhelmshaven	
119	Marx	Oberstabsarzt a. D., Prof.	Frankfurt a. M.	
120	Mayer	Stabsarzt, Doz. f. Hyg.	München	Operationskursus
121	Meinicke	Vorsteher	Hagen	Bakt. Untersuchungsanstalt
122	Meyer	Abteilungsvorsteher	Bremen	Gesundheitsamt
123	Mießner	Professor	Hannover	Tierärztl. Hochschule
124	Morgenroth	„	Berlin	Pathol. Institut
125	Mohrmann	Kreisarzt	Stade	
126	Much		Hamburg-Eppendorf	
127	Mühlens	Oberstabsarzt a. D., Prof.	Hamburg	Tropenhyg. Institut
128	Müller, Reiner	Privatdozent	Kiel	Hospitalstr. 34
129	„ P. Th.	Professor	Graz	Hyg. Institut
130	„ O.	Privatdozent	Königsberg i. Pr.	
131	Musehold	Generaloberarzt	Schöneberg b. Berlin	Landwehrdienstgebäude
132	Neißer	Professor	Frankfurt a. M.	Städt. Hyg. Institut
133	Neufeld	Professor	Berlin	Inst. für Infekt.-Krankheiten
134	Neumann	Professor	Gießen	Hyg. Institut
135	Nietner	Oberstabsarzt a. D., Prof.	Gr.-Lichterfelde	Sternstr. 13
136	Nocht	Professor, Ober-Med.-Rat	Hamburg	Tropenhyg. Institut
137	Noetel	Stabsarzt	Münster i. W.	
138	Öttinger	Privatdozent	Breslau	Hygien. Institut
139	Orth	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Pathol. Institut
140	v. Ostertag	Geh. Reg.-Rat, Prof.	„	Kaiserl. Gesundheitsamt
141	Otto	Stabsarzt, Prof., Privatdozent	Hannover	
142	Overbeck	Oberstabsarzt	Itzehoe	
143	Paltauf	Geh. Hofrat, Professor	Wien	Serotherapeut. Institut
144	Paschen		Hamburg	Alte Rabenstr. 14
145	Petruschky	Professor	Danzig	Städt. Gesundheitsamt
146	Pfeiffer, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Breslau	Hyg. Institut
147	„ L.	Professor	Rostock	„ „
148	Pfuhl	Generaloberarzt a. D., Prof.	Berlin W	Corneliusstr. 4a
149	Pick	Professor	Wien	Serotherapeut. Institut
150	Plehn	„	Berlin W 62	Kleiststr. 22.
151	Prausnitz	Privatdozent	Breslau	Hyg. Institut
152	Přibram	„	Wien	Serotherapeut. Institut
153	Proskauer	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin	Städt. Untersuchungsamt

Lfde. Nr.	Name	Amtscharakter	Wohnort	Adresse
154	v. Prowazek		Hamburg	Tropenhyg. Institut
155	Pusch	Kreisarzt	Danzig	
156	Raubitschek	Prosektor	Czernowitz	Pathol. Institut
157	Reichel	Privatdozent	Wien	Hygien. Institut
158	Reichenbach	Professor	Göttingen	Hyg. Institut
159	Römer	Professor	Marburg	Hyg. Institut
160	„	„	Greifswald	Augenklinik
161	Rosenthal	Prof., Privatdozent	Göttingen	Hyg. Institut
162	Roth	Professor	Zürich	„ „
163	Rothe	Stabsarzt	Frankfurt a. M.	
164	Ruß	Privatdozent	Wien	Bakt. Labor. d. k. k. Mil.-San.-Kom.
165	Ruge	Generalarzt, Prof., Privdoz.	Kiel	
166	Ruppel	Professor	Höchst a. M.	Farbwerke
167	Sachs	„	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
168	Seitz	Privatdozent	Bonn	Hyg. Institut
169	Selter	„	„	„ „
170	Silberschmidt	Professor	Zürich	„ „
171	Sobernheim	„	Berlin	Städt. Untersuchungsamt
172	Schattenfroh	„	Wien	Hyg. Institut
173	Scheller	Privatdozent, Prof.	Breslau	„ „
174	Scheurlen	Ober-Med.-Rat	Stuttgart	
175	Schilling	Professor	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
176	Schmitt	Direktor, Prof.	Züllchow b. Stettin	
177	Schmorl	Geh. Med.-Rat., Prof.	Dresden	Städt. Krankenh. Friedrichst.
178	Schnürer	Professor	Wien	Tierärztl. Hochschule
179	Schottelius	Geh. Hofrat, Professor	Freiburg	
180	Schuberg	Reg.-Rat, Prof.	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
181	Schumburg	General-Oberarzt, Prof.	Straßburg	
182	Schütz	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. W. 6	Tierärztl. Hochschule
183	Spitta	Prof., Reg.-Rat	„	Kaiserl. Gesundheitsamt
184	Stempell	Professor	Münster i. W.	Nordstr. 34
185	Sternberg	Privatdozent	Brünn	
186	Sticker	Professor	Berlin N. 24	Chirurg. Klinik, Ziegelstr.
187	Tavel	„	Bern	Chirurg. Klinik
188	Thomas	Kreisarzt	Magdeburg	
189	Tiede		Köln	Schlachthof
190	Titze	Regierungsrat	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
191	Tjaden	Ober-Med.-Rat, Professor	Bremen	Gesundheitsamt
192	Trautmann	Abteilungsvorsteher, Prof.	Hamburg	Hyg. Institut
193	Trommsdorf	Privatdozent	München	„ „
194	Uhlenhuth	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Straßburg	„ „
195	v. Vagedes	Oberstabsarzt, Prof.	Danzig	
196	v. Wasiliewsky	Privatdozent, Prof.	Heidelberg	Inst. f. Krebsforschung
197	v. Wassermann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Inst. f. Infekt.-Krankheiten
198	Weber	Geh. Regierungsrat	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt
199	Weichardt	Professor	Erlangen	Hyg. Inst.
200	Weidanz	Kreisarzt	Bremen	
201	Weleminsky	Privatdozent	Prag	
202	Wernike	Geh. Med.-Rat, Prof.	Posen	Hyg. Institut
203	Wolff	Professor	Tübingen	„ „
204	v. Wunschheim	Privatdozent, Med.-Konsulent	Wien I	Handelsministerium, Biberg. 2
205	Wyss	Professor	Zürich	Hyg. Institut
206	Zwick	Prof., Reg.-Rat	Gr.-Lichterfelde	Kaiserl. Gesundheitsamt



Inhalt.





G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

